

TESIS DOCTORAL

**Aproximación al diagnóstico de causa de muerte
mediante el estudio de marcadores bioquímicos,
morfológicos e inmunohistoquímicos.**



Departamento de Anatomía Patológica e Historia de la Ciencia

Antonio Pelegrina Jiménez

Granada, 2015

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autor: Antonio Pelegrina Jiménez

ISBN: 978-84-9125-733-2

URI: <http://hdl.handle.net/10481/43355>



Universidad de Granada

Departamento de Anatomía Patológica e Historia de la Ciencia

Aproximación al diagnóstico de causa de muerte mediante el estudio de marcadores bioquímicos, morfológicos e inmunohistoquímicos.

Memoria de TESIS DOCTORAL realizada bajo la dirección de los Doctores Francisco Javier O'Valle Ravassa. profesor Titular de Anatomía Patológica Universidad de Granada, Eduardo Osuna Carrillo de Albornoz, Catedrático de Medicina Legal y Forense Universidad de Murcia y Raimundo García del Moral Garrido, Catedrático de Anatomía Patológica Universidad de Granada. Presentada por el Licenciado Antonio Pelegrina Jiménez para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad de Granada.

Granada, 11 de noviembre de 2015.

Fdo: Antonio Pelegrina Jiménez

Vº Bº Directores de Tesis

Fdo: Dr. Francisco Javier O'Valle Ravassa

Fdo: Dr. Eduardo Osuna
Carrillo de Albornoz

Fdo: Dr. Raimundo Gacia de Moral
Garrido

El doctorando Antonio Pelegrina Jiménez y los directores de la tesis D. Francisco Javier O'Valle Ravassa, D. Eduardo Osuna Carrillo de Albornoz y D. Raimundo García del Moral Garrido, Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

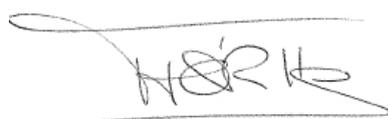
Granada, 13 de noviembre de 2015.

Doctorando



Fdo.: Antonio Pelegrina Jiménez

Director/es de la Tesis



Fdo.:Dr. Francisco O'Valle Ravassa



Fdo.: Dr. Eduardo Osuna
Carrillo de Albornoz



Fdo.: Dr. Raimundo García
Del Moral Garrido

A mis padres e hijos Antonio, Ángela y Ana.

A Carmen.

AGRADECIMIENTOS

A María Dolores Rodríguez Martínez , Técnico Especialista de Anatomía Patológica del Departamento de Anatomía Patológica e Historia de la Ciencia por su ayuda en el desarrollo de los métodos morfológicos e inmunohistoquímicos. Gracias por tu disponibilidad y gran capacidad técnica.

A Carmen Rosa Garrido de la Fundación FIBAO de Jaén por su asesoramiento en el análisis estadístico.

A la profesora Aurora Valenzuela Garach y al profesor Lucas González Herrera de la Medicina Legal de la Universidad de Granada, que han aportado parte de la casuística de este trabajo de tesis doctoral.

Al profesor Raimundo García del Moral Garrido por su amistad, su apoyo y dirección.

Al profesor Eduardo Osuna Carrillo de Albornoz por su amistad, apoyo. Su dirección en el estudio macroscópico y bioquímico ha sido decisiva para llevar a cabo este trabajo de tesis.

Al profesor Francisco J. O'Valle Ravassa por las largas jornadas fuera de horario de trabajo, que hemos pasado juntos realizando esta tesis, su amistad y sobre todo por su buen humor y más aún su calidad como persona.

A todos mi mayor agradecimiento y gratitud...

ÍNDICE

ÍNDICE

1. Abreviaturas.....	1
2. Resumen.....	5
3. Introducción.....	11
3.1.- La muerte.....	13
3.1.1. Mecanismo de muerte.....	13
3.1.2. Factor cronológico.....	15
3.1.3. Marcadores en el diagnóstico <i>post mortem</i>	15
3.1.4. Tanatoquímica.....	18
3.1.5. Concepto de muerte súbita.....	19
3.1.6. Aspectos médico legales de la muerte súbita.....	21
3.1.7. Problemas médicos legales de la muerte súbita.....	21
3.1.8. Etiología y epidemiología de la muerte súbita.....	22
3.2.-Procesos patológicos cardíacos y marcadores de lesión.....	23
3.2.1. Alteraciones funcionales y estructurales cardíacas.....	23
3.2.2. Marcadores de daño cardíacos	24
3.2.3. Infarto agudo de miocardio.....	27
3.3.- Poli(ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP1).....	37
3.3.1. Definición.....	37
3.3.2. Estructura	37
3.3.3. La superfamilia PARP.....	42
3.3.4 Función.....	46
3.3.4.1 Reparación del ADN.....	47
3.3.4.2 Muerte celular, apoptosis.....	49
3.3.5. Expresión, activación y control de la maquinaria transcripcional.....	51
3.3.6. PARP1 en la inflamación.....	51
3.3.7. Papel de PARP1	52
3.4.- Nogo-A.....	56
3.5.- Estrés celular.....	65
4. Justificación, planificación, hipótesis y objetivos.....	77
5. Material y métodos.....	81
5.1.- Obtención y característica de la muestra.....	83
5.2.- Métodos bioquímicos empleados.....	88
5.2.1. Obtención de muestra.....	88
5.2.2. Análisis bioquímico.....	88

5.2.2.1. Isoformas de la creatin kinasa MB.....	89
5.2.2.2. Mioglobina.....	99
5.2.2.3 CK-MB.....	101
5.2.2.4 Troponina I	107
5.2.2.5 Lipoperoxidación.....	115
5.3.- Métodos histológicos empleados.....	117
5.3.1. Selección de micromatrices.....	117
5.3.2. Elaboración de micromatrices de tejido.....	117
5.3.3. Procedimiento inmunohistoquímico para muestras incluidas enparafina.....	120
5.4.- Análisis y tratamiento estadístico.....	125
5.5.- Afirmación explícita de aplicación de normas éticas y legales.....	134
6.- Resultados.....	135
7.- Discusión.....	267
8.-Conclusiones.....	291
9.-Bibliografías.....	295

1. ABREVIATURAS

1.Abreviaturas.

AA -Aminoácidos

BRIHH- Bloqueo de rama izquierda

CABG - Cirugía de revascularización coronaria

CO- Monóxido de carbono

cTnT - Troponina T cardíaca

cTnI - Troponina I cardíaca

cTnC - Troponina C cardíaca

ECC - Enfermedad congestiva crónica cardíaca

ECV - Enfermedades cerebro vasculares

H/R - Hipoxia/Reperusión

HV- Humor vítreo

IAM - Infarto agudo de miocardio

IM- Infarto de miocardio

IMR-Infarto de miocardio recurrente

K-S - Kolmogorov-Smirnov

MA-Metanfetamina

LCR - Líquido cefalorraquídeo

LPC - Líquido pericárdico

MMPs - Metaloproteinasas.

MS - Muerte súbita.

MSC- Muerte súbita cardíaca

RE - Retículo endoplásmico

RLO - Radicales libres del oxígeno

RTN - Reticulon

SNC - Sistema Nervioso Central

URL - Superior de referencia

2. RESUMEN

Aproximación al diagnóstico de causa de muerte mediante el estudio de marcadores bioquímicos, morfológicos e inmunohistoquímicos.

2. RESUMEN

La muerte es el estadio final de una serie de eventos que conducen a una parada cardíaca, donde inciden una serie de factores genéticos y ambientales actuando como factores moduladores en un miocardio vulnerable. Si bien existe diferentes causas y factores la mayoría no se relaciona con pruebas diagnósticas de laboratorio salvo el infarto de miocardio (IM).

Cuando un individuo fallece de muerte súbita, la principal causa en el 90% de los casos es cardíaca y dentro de esta en un 95% nos encontramos una cardiopatía estructural, siendo la de origen isquémico la que representa el 80% de los casos. Considerar que en el 5% de las autopsias en los casos de muerte súbita e inesperada tras realizar un estudio médico legal completo no es posible averiguar la causa de muerte, son clasificadas como autopsias blancas que pueden llegar al 30% de los casos en adultos jóvenes.

El infarto agudo de miocardio (IAM) es definido en patología como la muerte celular de miocardiocitos debido a isquemia prolongada. La necrosis completa de las células miocárdicas requiere al menos 2-4 horas o más dependiendo de la circulación colateral sobre la zona isquémica.

El diagnóstico de IM es particularmente fácil para el patólogo, cuando se ha producido un daño estructural y si ha transcurrido un tiempo suficiente para que puedan ser apreciados los cambios macro y microscópicos; pero complicado si la muerte se produce antes de que se produzcan dichos cambios, ya que estos no aparecen de forma inmediata desde el inicio de la isquemia sino que para que se puedan detectar precisan un tiempo de supervivencia mínimo. Con las técnicas histológicas clásicas (como la tinción de hematoxilina-eosina la zona isquémica/infartada no se puede detectar hasta pasadas al menos 6 horas desde su inicio de la sintomatología); problema que se plantea en gran mayoría de casos, produciéndose la muerte sin que de tiempo a que se ponga de manifiesto los cambios macroscópicos y microscópicos a nivel miocárdico. Más difícil

lo tiene cuando las causas son de origen de conducción del estímulo eléctrico como la fibrilación ventricular. Por ello es necesario encontrar marcadores de isquemia miocárdica precoces.

Diferentes técnicas y marcadores, objeto de esta tesis doctoral, pueden ser utilizados para dicho fin.

- *Marcadores bioquímicos:*

Se han convertido en una parte esencial de la patología forense. Los primeros marcadores bioquímicos cardíacos tradicionales fueron la lactato deshidrogenasa (LDH) y la enzima creatina quinasa (CK). Esta última posee las isoenzimas de origen muscular "M" y cerebral "B" y CK-MB que puede distinguirse de la CK total por métodos enzimáticos e inmunológicos.

En el IAM el miocardiocito dañado, debido a que la membrana celular se hace más permeable por la isquemia y la necrosis, permite la salida de macromoléculas intracelulares que difunden primero al espacio intercelular, espacios corporales aislados como pericardio y finalmente al torrente circulatorio.

Para el diagnóstico *post mortem* de la lesión isquémica precoz y de IM el fluido de elección es el líquido pericárdico.

- *Marcadores inmunohistoquímicos y serológicos:*

Proteínas estructurales y enzimáticas cardíacas.

En aras de poder hacer una rápida detección después de síntomas propios de IM se desarrollaron test capaces de detectar proteínas de pequeña masa molecular capaz de atravesar membranas y salir más rápidamente al torrente sanguíneo tras la necrosis miocárdica.

- La Mioglobina con una masa molecular de 178 kDa procede del citoplasma de células musculares esqueléticas y cardíacas. Aparece rápidamente en sangre y representa un marcador muy sensible por la precocidad del mismo, aunque poco específico por su aparición en otros procesos lesivos músculo-esqueléticos.

- La troponina I es una proteína encontrada en el tejido muscular, que en conjunción con las troponinas T y C regulan la interacción del Ca^{2+} entre la actina y miosina. Se han

identificado 3 isoformas de troponina I: una asociada a las fibras rápidas y delgadas del músculo esquelético, otra a las fibras lentas y la tercera asociado a los filamentos finos del sarcolema del aparato contráctil de la célula de expresión exclusivamente cardíaca. Esta última isoforma, tiene un residuo de 31 aa en la parte aminoterminal. Estudios clínicos han demostrado que la troponina I cardíaca cTnI es demostrable en sangre 4 a 6 horas después del IM y se mantiene elevada durante 2 semanas. La inmunoreactividad de la proteína cTnI disminuye en el área de infarto establecido. En zonas con sospecha de lesión isquémica precoz puede observarse una ligera depleción localizada.

- La troponina T cardíaca (cTnT): En casos de IM se observa una depleción de esta proteína en áreas lesionadas, en casos de muerte súbita la isquemia se puede demostrar en algunas lesiones. Sin embargo, otros autores sostienen que esta proteína es de menor utilidad y sensibilidad, observándose una depleción en miocardio normal (Martínez Díaz et al., 2005)

- La troponina C: En áreas de infarto establecidas hay una menor inmunoreactividad a esta proteína.

- El Nogo-A: Es expresado en el citoplasma de algunas células miocárdicas y aunque no ha sido establecido como marcador cardíaco, ha sido probada su disminución en isquemia cortical cerebral (Kempf & Schwab, 2013).

- El enzima nuclear Poli(ADP-ribosa) polimerasa1 (PARP1): Es un sensor interruptor molecular de daño de ADN que inicia la reparación por escisión de bases. Sin embargo, ante el daño isquémico se produce un exceso en su activación y la inducción de muerte por necrosis de las células. El estrés oxidativo y la actividad de PARP contribuyen a la vía de muerte celular individual por isquemia/reperfusión cardíaca en modelos murinos (Virag, 2005). Así la activación de PARP1 si el daño es reducido reparará el material nuclear para evitar que transmita mutaciones a la descendencia. Si la lesión es significativa, reduciría la supervivencia celular evitando la recuperación mitocondrial manteniendo la despolarización y favoreciendo significativamente la muerte celular por agotamiento del ATP.

Justificación

Conocer la causa de muerte tiene gran trascendencia legal y clínica. Poder distinguir entre diferentes causas de muerte súbita como la producida por un fallo cardíaco, asfíctico o traumático mediante análisis bioquímicos, estudio morfológico y marcadores inmunohistoquímicos cardíacos puede ser un gran avance en el diagnóstico *post mortem*.

Hipótesis

La interpretación conjunta de datos bioquímicos de enzimas relacionados con el sufrimiento cardíaco, los datos del estudio morfológico e inmunohistoquímico con la incorporación de marcadores relacionados con la isquemia como PARP1 pueden proporcionar una información más exacta sobre la causa de muerte súbita en adultos.

Objetivos

Para responder a la hipótesis presentadas previamente nos planteamos los siguientes Objetivos:

1- Específicos.

Establecer posibles diferencias bioquímicas en suero o líquido pericárdico de niveles enzimático y de peroxidación y en tejido cardíaco de cadáver entre las distintas causas de muerte.

2- Secundarios.

1. Determinar mediante métodos bioquímicos niveles de peroxidación en suero, líquido pericárdico y tejido cardíaco.
2. Realizar estudio morfológico y morfométrico en las muestras cardíacas incluidas en parafina
3. Determinar mediante métodos inmunohistoquímicos niveles de expresión enzimáticos de troponinas en tejido cardíaco.
4. Identificar mediante métodos inmunohistoquímicos la la expresión de poli (ADP-ribosa) polimerasa en tejido cardíaco.
5. Identificar mediante métodos inmunohistoquímicos la expresión de Nogo-A en tejido cardíaco.

3.INTRODUCCIÓN

3.1.- INTRODUCCIÓN A LA CAUSA DE MUERTE

3.1.1. LA MUERTE

La muerte de origen cardíaco es la causa más frecuente de defunción en los países occidentales. Siendo las enfermedades coronarias el responsable del 75-80% de las “muertes súbitas” adquiriendo características dramáticas por su forma de presentación y sus implicaciones socioeconómicas.

Los factores de riesgo pueden subdividirse en aquellos que sugieren enfermedad cardíaca estructural y aquellos que reflejan marcadores fisiológicos alterados.

El hallazgo de una única anomalía como lesión cardíaca en la autopsia no permite asegurar que esa sea la etiología del fallecimiento. Esto ocurre especialmente en cardiopatía isquémicas (Virmani, 1987).

La enfermedad coronaria comprende las siguientes causas (Liberthson, 1996; Levy, 1990):

- a) Arteriosclerosis coronaria
- b) Cardiopatía hipertensiva
- c) Valvulopatía aórtica.
- d/ Prolapso de válvula mitral
- e) Miocarditis
- f) Hipertensión pulmonar
- g) Alteraciones de la circulación coronaria.
- h) Otras alteraciones de la circulación coronaria como poliarteritis
- i) Miocardiopatía dilatada e hipertrófica
- j) Alteraciones hereditarias y adquiridas del sistema de conducción cardíaco
- k) Hipertrofia aislada secundarias a causa de hipertensión o de causa desconocida
- l) Algunas enfermedades cardíacas congénitas.

3.1.2. Mecanismo de muerte

En el mecanismo está implicado bien de forma primaria, o bien como consecuencia de una lesión coronaria, o un vasoespasmo, una arritmia mortal con asistolia o fibrilación

ventricular. El mecanismo principal en la génesis de la arritmia cardíaca parece ser de reentrada, implicándose otros como el automatismo y la disfunción mecánica local (Nishizaki, 1996)

En la isquemia coronaria, los vasos afectados por orden de frecuencia son la rama descendente anterior de la coronaria izquierda, la porción próximal de la coronaria derecha, la circunfleja y la porción proximal de la coronaria izquierda). Sin embargo una proporción bastante elevada entre el 25-36% sobre todo en pacientes jóvenes ocurren en sujetos con coronariografía normal.

Según la angiografía se pueden clasificar en síndromes coronarios agudos (Infarto agudo de miocardio) y crónicos (angina inestable) (Bogaty, 1993). Los Agudos con lesiones menos extensas y graves.

Los fenómenos intraplaca se han relacionado con el síndrome coronario. Suele ocurrir en estadios iniciales cuando la placas de arterioesclerosis aun no están organizadas. Son ricas en lípidos y de escaso componente fibrosos, evolucionando hacia la formación de fisuras y/o roturas con posterior trombosis dando lugar a angina inestable, infarto de miocardio o muerte súbita (Virmani, 2000).

La localización del infarto va a afectar a aquellos territorios con mas demanda de oxígeno e irrigación insuficiente a las necesidades. Esto explica que el IM sea casi exclusivo del territorio del ventrículo izquierdo, localizándose dentro de éste preferencia en el tercio distal, es decir en el ápex. En relación al espesor se afecta preferentemente en el tercio interno (subendocardio).

El infarto exclusivo del ventrículo derecho es excepcional, es menos frecuente de lo que cabría esperar, puede soportar largos periodos de isquemia con recuperación excelente de la función contráctil tras reperfusión. Cuando se afecta es como consecuencia de una extensión del ventrículo Izquierdo. El 50% de los infartos inferiores afecta al ventrículo derecho. Afecta a los pacientes con infarto transmural de la pared inferoposterior y porción posterior del tabique interventricular (Vargas-Barrona, 2007).

Aproximadamente un 50% de los infartos son anteroseptales, alrededor de un 30% son posteroseptales y sobre el 15% laterales. El infarto septal puro es raro, al igual que el de la arteria circunfleja sola que compromete todos los territorios del ventrículo izquierdo.

El Infarto auricular se observa en el 3.5% de las autopsias de pacientes con IAMSEST. También aparece asociado a infarto ventricular y puede provocar la rotura auricular, es más frecuente en el lado derecha que el izquierdo y en las orejuelas que en la pared posterior o inferior. Se acompaña con frecuencia de trombos y arritmias auriculares y de la secreción inadecuada de péptido natriurético.

3.1.3. Factor cronológico

Tras el IAM La necrosis subendocárdica comienza a los 20 minutos y se extiende hasta completarse el infarto transmural tardando el proceso unas 4 horas.

Este fenómeno de necrosis o muerte del tejido es irreversible llevando aparejados cambios cualitativos en las miofibrillas del citoplasma y degenerativos de los núcleos.

Salvo que haya aparecido complicaciones como rotura de pared cardíaca, trombosis mural, rotura de músculos papilares etc. En el examen en fresco macroscópico del tejido cardíaco sólo es posible evidenciar lesiones características del IAM a partir de un intervalo de tiempo que oscila entre las 4 y 10 horas para algunos autores (Sandritter & Wartman, 1967; Gould, 1968) y para otros entre 8 y 12 horas (Shoen, 2000; Knight, 1996).

3.1.4. Marcadores en el diagnóstico *post mortem*

En el cadáver al igual que el sujeto vivo se hace necesario el estudio complementario de pruebas analíticas para establecer la causa de muerte y llegar a conclusiones validas sobre las circunstancias que pueden haber contribuido a la misma. Como hemos indicado anteriormente en muchos casos existen datos que apoyan la causa de muerte cardíaca pero que no son concluyentes por ejemplo cardiomegalia, fibrosis miocárdica, arteriosclerosis o son autopsias blancas en la que no podemos establecer la causa de muerte.

En este sentido el estudio diagnóstico complementario en clínica ofrece ventajas sobre el realizado en cadáver donde se producen problemas de aplicación técnica e interpretación de resultados.

Hay que tener en cuenta en el análisis post mortem, la paralización de transporte activo a través de las membranas biológicas y el rápido fracaso metabólico. Muchas concentraciones de analitos se afectan en la distribución o concentración debidos a los cambios *post mortem*. Por ello solo se debe determinar analitos estables durante un periodo *post mortem* amplio en los distintos fluidos biológicos.

Distintos fluidos y parámetros han sido estudiados buscando el analito más estable con relación al intervalo *post mortem* y posible causa de muerte.

(Coe, 1993) en sus “exámenes rutinarios *post mortem* de electrolitos in vitro” la glucosa y urea pueden aportar información importante en determinadas causas de muerte o en la data. La adecuada utilización de una amplia variedad de determinaciones bioquímicas en sangre, LCR, líquido pericárdico, humor vítreo y otros fluidos corporales ayudaría a resolver problemas forenses en el 10% de causas de muerte rutinarias.

El humor vítreo ha ocupado un lugar destacado especialmente en la determinación de la data de muerte (James et al., 1997) y en el estudio de las intoxicaciones. Ejemplo de ello es la determinación de alcohol (Flanagan & Connally, 2005a; 2005b) o la determinación de CDT (Transferrina deficiente en Carbohidratos) como marcador post mortem de alcoholismo crónico (Osuna et al., 2000) y la determinación de la Beta-OHB (Beta hidroxibutirato) en casos de diabetes mellitus en autopsias donde no se aprecia datos macroscópicos (Osuna et al., 2005).

Es importante conocer los valores de referencia y al interpretar estos valores hay que tener en cuenta el intervalo de supervivencia y agonía antes de la muerte como el intervalo *post mortem*.

La determinación de marcadores es muy importante en estos casos (Luna et al., 1982a,b; Stewart et al., 1984; Lachica et al., 1988; Osuna et al., 1998a,b,c; Pérez-Cárceles et al., 1995a y b; 2002). Múltiples estudios refuerzan este hecho demostrando la utilidad post mortem de la CK-MB y cTnI en los caso de muerte súbita de origen cardíaco al igual que en caso de traumatismo torácico.

La determinación de miosina también ha sido de gran utilidad en el diagnóstico post mortem del daño miocárdico (Pérez-Cárceles et al., 1995a,b).

Otros marcadores también han sido utilizados para dicho fin como hormonas tiroideas, aminas biógenas y enzimas relacionadas con el sistema antioxidante (Edston, 1996; (Hirvonen & Hutunen, 1996; Ramos et al., 1997).

Cina y colaboradores (2001) demostraron que la determinación de cTnT cardíaca podría discriminar si la víctima de un accidente de tráfico ha sido causada por un IAM siempre y cuando no haya lesiones torácicas.

Osuna et al., (1998a,c) y Pérez-Cárceles et al., (2004) han estudiado la eficacia en líquido pericárdico y suero de la troponina I en el diagnóstico *post mortem* del infarto de miocardio comparándolo con otros 4 marcadores demostrando una clara relación entre los niveles de cTnI y la intensidad del daño miocárdico producido por el infarto.

También Cina et al., (1998) demostraron la correlación de cTnI en la causa de muerte de origen isquémico y Ooi et al., (2000) han demostrado esa correlación entre los niveles de CK-MB, cTnI y cTnT y cambios histológicos cardíacos significativos en autopsias de pacientes sin clínica de IAM.

En el cadáver los niveles de cTnI y CK-MB en la sangre periférica, cardíaca y líquido pericárdico en general muestran una elevación leve y gradual *post mortem*, dependiente del factor tiempo. La elevación *post mortem* de cTnI es mayor para ciertas causas de muertes específicas, incluyendo infarto agudo de miocardio (IAM), enfermedades cerebrovasculares (ECV), hipertermia, el abuso fatal de metanfetamina (MA) y la intoxicación de monóxido de carbono (CO) e insignificante para el infarto de miocardio recurrente (IMR), la enfermedad congestiva crónica cardíaca (ECC) y las asfixias por ahogamiento. La CK-MB fue mayor para la intoxicación por CO e insignificante para las asfixias por ahogamiento.

Los niveles elevados de cTnI y CK-MB en sangre y líquido pericárdico se relacionan con el daño isquémico, hipóxico y/o daño miocárdico citotóxicos, que son característicos de la causa de la muerte, aunque en estos niveles aumenten después de la muerte. Cuando se estima la relación cTnI / CK-MB, se vio que esta era independiente del tiempo después de la muerte, y las relaciones entre sangre periférica, cardíaca y líquido pericárdico fueron mayores, salvo en ahogamientos (Zhu, 2007).

3.1.5. Tanatoquímica

La utilización de métodos complementarios diagnósticos en las autopsias amplían en gran medida las posibilidades de obtener información confirmando o descartando determinadas causas de muerte. Así como poder reconstruir la secuencia de los hechos (Gisbert Calabuig et al., 2004).

El término de “tanatoquímica” o “bioquímica cadavérica” es propuesto por Evans en 1963 para explicar procesos en el cadáver a escala molecular. En el cadáver existe aun restos de vida produciéndose cambios enzimáticos aunque con peculiaridades diferentes a los tejidos vivos (Gisbert & Villanueva, 1998), con fenómenos de putrefacción y autólisis sufriendo muchos compuestos cambios tanto cualitativos como cuantitativos.

La utilización de una amplia variedad de parámetros bioquímicas en sangre, LCR, HV, líquido pericárdico y otros fluidos corporales ayudan a resolver determinados problemas en patología forense (Coe, 1993).

Cuando se produce un fallecimiento se produce una reducción del aporte de energía a los tejidos con rápido fracaso metabólico que conlleva una paralización del transporte activo a través de las membranas biológicas con destrucción de la integridad de los distintos compartimentos y la descomposición de moléculas complejas en otras más simples (Luna et al., 1983; Pérez-Cárceles et al., 1995b). Dentro de las modificaciones la más importante es la citólisis y es también es la primera en producirse. Se liberan enzimas de organelas impermeables en la células vivas, lisosomas, digiriendo a la célula, careciendo de significado patológico y son únicamente expresión de la fisiología del fenómeno *post mortem* (Gisbert Calabuig et al., 2004). Solo a partir de estos datos se podrá discriminar correctamente los hallazgos bioquímicos procedentes de la lesión frente a los de autólisis. Dicho fenómeno puede producir ciertas limitaciones (Coe, 1993).

Teniendo en cuenta que los fenómenos de autólisis no ocurren al mismo tiempo y puede haber un intervalo variable *post mortem*, en el que los cambios bioquímicos y funcionales previos al fallecimiento puedan corresponder a la causa de muerte es necesario conocer las posibles interferencias debidas a los fenómenos de autólisis (Coe, 1993). Muchas concentraciones de marcadores sufren cambios *post mortem* como la redistribución y hemoconcentración. Por lo que los más idóneos son aquellos que

permanecen más estables en los distintos fluidos biológicos durante un periodo más o menos amplio y en función de la investigación que interese estudiar.

3.1.6. Muerte súbita.

3.1.6.1. Concepto de Muerte Súbita

La muerte súbita (MS) viene definida por tres criterios fundamentales: su etiología natural, la rapidez con que se presenta y el carácter inesperado de la misma, es decir sin signos precedentes.

Para que se pueda hablar de MS el proceso debe de ser natural por lo que queda excluido del mismo las muertes violentas (Concheiro& Suarez, 2004; Castellá et al., 2013; Basso et al., 2010; Oliva et al., 2011).

Debe de producirse rápidamente, el periodo entre la aparición de los síntomas y la muerte debe de ser corto (no existe un acuerdo unánime sobre el tiempo del mismo, hay autores que hablas de 1 hora (Concheiro& Suarez, 2004; Castellá et al., 2013; Basso, 2010; Gallagher, 2007) lo mas aceptado actualmente y otros de 6 horas (Virmani et al., 2000). La OMS habla de un periodo más amplio de 24 horas (Castellá et al., 2013;Virmani & Gallagher, 2007) este periodo de tiempo más amplio pone en evidencia los cambios morfológicos (microscópicos, macroscópicos), bioquímicos y fisiológicos que ponen fin a la vida de la persona.

El carácter inesperado se basa en que acontece sobre una persona sana o enfermo cuya gravedad no hacía pensar que pudiese fallecer en ese momento, siendo esa muerte totalmente imprevista (Concheiro& Suarez, 2004; Castellá et al., 2013; Basso et al., 2010).

Especial consideración tiene las muertes no esperadas ni presenciadas sin que se pueda precisar el momento exacto de la muerte. La OMS clasifica de MS a estas muertes siempre que el fallecido haya sido visto con vida y en una situación estable en un tiempo menor de 24 horas antes de encontrarlo muerto (Castellá et al., 2013; Basso et al., 2010; Morentin & Audicana, 2011; Oliva et al., 2011; Rodríguez & Viñolas, 1999; Adabag et al., 2010).

Hay que diferenciar el concepto de MS del de muerte repentina, esta última la cual también se produce una forma muy rápida pero acontece sobre un paciente con antecedentes previos patológicos que explica la muerte (Castellá et al., 2004).

Tabla 1. Causas de muerte súbita

	n	(%)
Víctimas de MS	204	
<i>Enfermedades cardiovasculares</i>	183	
Cardiopatías	161	
Enfermedad coronaria	119	(58.4)
Cardiopatía hipertensiva	20	(9.9)
Valvulopatías	5	(2.4)
HVI idiopática	4	(1.9)
Miocardiotipía dilatada	4	(1.9)
Miocardiotipía hipertrófica	3	(1.5)
Miocardiotipía arritmogénica del VD	3	(1.5)
Miocarditis	1	(0.5)
Cardiopatías congénitas	1	(0.5)
Amiloidosis	1	(0.5)
Enfermedad vascular	22	
Embolia pulmonar	8	(3.9)
Diseción aórtica	9	(4.4)
Hemorragia cerebral	5	(2.4)
<i>Enfermedades no cardiovasculares</i>	7	
Trastornos gastrointestinales	3	(1.5)
Trastornos pulmonares	4	(1.9)
<i>Sin hallazgos</i>	14	(6.9)

Modificado de Bayés & Elosuab, 2012.

3.1.6.2. Aspectos médico-legales de la muerte súbita.

Hay que diferenciar los conceptos de muerte natural, muerte violenta y muerte sospechosa de criminalidad. La primera tiene un origen interno resultado de un proceso morboso intrínseco sin que hayan participado fuerzas externas al propio organismo.

La muerte violenta viene definida por la participación de fuerzas externas al propio organismo, ha podido ser puerta en marcha por una tercera persona, según su origen puede ser accidental, homicida o suicida.

La muerte sospechosa de criminalidad se define como aquella que existe algún indicio de origen médico o no que priori no haga descartar el origen criminal (ley de Enjuiciamiento Criminal artículos 340 y 343). En caso de muerte violenta o sospecha de criminalidad se deberá practicar autopsia judicial.

3.1.6.3. Problemas médico-legales de la muerte súbita

Con frecuencia se plantea problemas a la hora de la determinación y diferenciación de la causa de muerte tanto a la hora de emitir un certificado médico o en diferentes contextos. Como ejemplo: en un accidente (laboral o tráfico) y que realmente tiene su origen en una causa natural como puede ser un fallo cardíaco súbito (Navarrete 1976; Lachica et al., 1988) pudiendo ser primero la muerte y después el accidente. Es fundamental determinar la causa de muerte ya que ésta tendrá una trascendencia médico-legal (en relación con seguros de vehículos, laborales, vida, etc...).

La muerte súbita es considerada como ejemplo de muerte sospechosa de criminalidad y se deberá realizar autopsia judicial pues no se puede considerar como tal hasta que no hayan concluido los estudios médico-legales de la misma donde queden de manifiesto la causa natural de la misma

Una vez finalizado la autopsia esta se puede clasificar como:

- MS Lesional: los hallazgos microscópicos, macroscópicos o bioquímicos justifican la causa de la muerte.
- MS Funcional con sustrato patológico: cuando existen hallazgos que pueden explicar la muerte pero que no son incompatibles con la vida.

- MS Funcional con hallazgos inespecíficos que no justifican la causa de la muerte, son las autopsias negativas o blancas.

3.1.6.4. Etiología y epidemiología de la muerte súbita.

Múltiples son las causas pero destaca en un 90% el origen cardíaco (Castellá et al., 2013; De Asmundi & Brugada, 2013; Priori 2015; Rodríguez & Viñolas, 1999; Gallagher 2007; Subirana et al., 2011) por lo que hablar de MS es casi sinónimo de muerte súbita cardíaca (MSC). Entre las de causa no cardíaca destacar entre las patologías cerebrales la hemorragia cerebral (subaracnoidea o intraparenquimatosa) y epilepsia o entre las enfermedades pulmonares el asma y el embolismo pulmonar.

Es preciso poner de manifiesto que un 5% de la muertes rápidas e inesperadas son autopsias blancas o negativas y es imposible determinar la causa de muerte y si la edad de los fallecidos son menores de 35 años ese porcentaje sube hasta el 20-30% de los casos (Adabag et al., 2010; De la Grandmaison, 2006; Morentin & Audicana, 2011).

En nuestro medio el 15% de las muertes naturales ocurren de forma súbita (Castellá et al.; 2013; De Asmundis & Brugada, 2013; Marrugat et al., 1999; Subirana et al., 2011).

La incidencia aumenta con la edad y de forma significativa a partir de los 35-40 años (Morentin,2011; Bayés, 2012).

Las personas que sobreviven a una MS tienen una alta tasa de recurrencia en los 2 años siguientes entre el 45% y 65%. (Lopera et al., 2000).

3.2.- INTRODUCCIÓN A LOS PROCESOS PATOLÓGICOS CARDÍACOS Y MARCADORES DE LESIÓN.

3.2.1. Alteraciones Funcionales y estructurales cardíacas

Cuando se produce un daño cardíaco este se pone de manifiesto por:

- La clínica.
- Cambios fisiológicos que alteran la conducción eléctrica cardíaca (ECG) o relacionados con el trabajo del mismo como el volumen de eyección (tensión arterial).
- Lesiones metabólicas, las cuales podemos poner de manifiesto mediante pruebas serológicas con test de laboratorio o biomarcadores serológicos o técnicas de biología molecular.
- Lesiones estructurales tanto micro (alteraciones microestructurales puestas de manifiesto por análisis microscópico de los tejidos con distintas tinciones e inmunotinciones) o macro (lesiones objetivadas mediante análisis de imagen (RX, TAC resonancia magnética, ecocardiografía, o imagen con radionucleótidos PET, SPET).

Cuando se produce un daño en la membrana de cardiomiocitos, da lugar a la liberación de moléculas de material celular, en su mayoría enzimas solubles intracitoplasmáticas y en menor cuantía enzimas mitocondriales que constituyen el sustrato del desarrollo de tests diagnósticos cardíacos o biomarcadores.

La aparición de estos biomarcadores depende del flujo sanguíneo. Un área de miocardio con una perfusión deficiente libera las moléculas más lentamente que aquellas con una mayor perfusión. Las zonas subendocárdicas sufren más por estar esta peor vascularizada al igual que el ventrículo izquierdo en relación con el derecho por ser sus necesidades mayores de oxígeno.

Otro factor que afecta a la liberación del contenido intracelular es el tamaño molecular de los diferentes marcadores, así se liberarán primero aquellas de menor tamaño como la CK que tiene 80kDa en relación con la enzima AST de 93kDa y esta se liberará antes que el enzima LD de peso molecular de 14kDa.

Dentro de estos marcadores cardíacos (Muñoz M, 2015) nos encontramos indicadores de factores de riesgo, reactantes de fase aguda, necrosis, isquemia, desestabilización de

placa de ateroma, ruptura de placa, enzimas inflamatorias, pronóstico, evolución o estratificación (angina estable, SCASEST, SCACST) esquematizado en el cuadro 1. Debido a la extensión del tema mencionaremos solo aquellas que tengan gran importancia o sean objeto de este trabajo.

3.2.2. Marcadores de daño cardíaco

3.2.2.1. Marcadores de Disfunción Miocárdica.

- BNP
- NT-ProBNP

El péptido natriurético cerebral y su extremo amino terminal se usan para el diagnóstico diferencial y el pronóstico de la insuficiencia cardíaca. Son liberados por los miocitos cardíacos en respuesta al estiramiento de estos debido al aumento de la presión arterial. Tiene como función oponerse al sistema renina angiotensina aldosterona, estimulándola pérdida de sodio y por ende de volumen circulatorio. En general tienen un mayor valor predictivo negativo que positivo, ya que otros procesos que causen estiramiento agudo de las fibras miocárdicas (embolia pulmonar) también pueden elevarlo. Otra gran utilidad del BNP es el valor para monitorizar la respuesta al tratamiento. Una vez detectado un valor inicial de partida al iniciar el tratamiento. Recientes publicaciones demuestran que una reducción en los valores de BNP tras el inicio del tratamiento se correlaciona con menor tasa de rehospitalizaciones por descompensación de insuficiencia cardíaca y menor tasa de mortalidad a largo plazo.

- BNP y NT-proBNP no sirven para diferenciar entre fallos sistólicos y diastólicos ambos se elevan en el fallo cardíaco derecho, tampoco diferencian si este fallo se debe a causa cardíaca (fallo izquierdo) o respiratoria (cor pulmonale).

3.2.2.2. Marcadores de Necrosis Celular

La actina y miosina son componentes proteicos, altamente expresados en todas las células eucariotas. Los filamentos de actina son uno de los componentes para la contractilidad celular, con alta expresión en el tejido muscular. La miosina interacciona con la actina para proporcionar fuerza para poder realizar movimientos celulares. La troponina forma un complejo proteico que facilita la interacción entre miosina y actina mediante el transporte de Ca^{2+} . La troponina contiene 3 subunidades

Troponina C, I y T. La troponina C la subunidad transportadora de Ca^{2+} es expresada en el músculo cardíaco y en bastante menos cantidad en el esquelético y está envuelta en la regulación de las fases de contracción/excitación en el músculo cardíaco. La troponina I esta diferenciada en isoformas del músculo esquelético y cardíaco. La troponina T, la subunidad transportadora de tropomiosina juega su papel confiriéndole la sensibilidad del calcio a la actividad ATPasa actomiosina existiendo también en su isoformas muscular y cardíacas.

- cTnT
- cTnI
- Nogo-A

Se hablará de ellos más detenidamente en el apartado de infarto agudo de miocardio

3.2.2.3. Marcadores de Isquemia

- Aquellos propios de infarto agudo de miocardio (ver más adelante)
- Colina (presenta en la membrana celular) relacionada con la destrucción de la misma.
- FFau (*Free fatty acids*) Ácidos Grasos Libres. Las catecolaminas asociadas a la isquemia están relacionadas con su aumento (Enoksson et al., 2005; Kleinfeld et al., 2002).

3.2.2.4. Reactantes de Fase Aguda

- PCR ultrasensible. Sintetizada por el hígado y en relación con los procesos infecciosos e inflamatorios, su aumento en los procesos cardíacos puede venir de la desestabilización de la placa de ateroma. (Chung et al., 2007; Nilsson et al., 2003).

3.2.2.5. Ruptura de Placa

- sCD40L interactúa sobre el receptor CD40 provocando la liberación sobre la matriz extracelular de MMPs con desestabilización de la placa (Li et al., 2004). La liberación de factores tisulares activa a las plaquetas que aumenta el sCD40L perpetuando la inflamación y actividad protombótica del endotelio vascular.
- PIGF (Factor de crecimiento placentario) con alta homología con proteínas plaquetarias y similitud estructural con el endotelio vascular, relacionadas con

la activación del proceso inflamatorio y reclutación de macrófagos y crecimiento de células musculares (Murakami et al., 2003; Barillari et al., 1998).

- PAPP-A (Proteína A plasmática asociada a embarazo). Molécula proateroesclerótica (Sivanandam et al., 2004; Lund et al., 2003).

3.2.2.6. Desestabilización de la Placa

- MPO. La mieloperoxidasa se almacena en los gránulos azurófilos de los PMN y macrófagos jugando un papel importante en el estrés oxidativo e inflamación con desestabilización de la placa de ateroma.
- MMPs. Las metaloproteinasas juegan un papel regulando la matriz extracelular de la mayoría de los tejidos, en este caso degradando la capa de colágeno que protege al ateroma haciendo a este inestable y sensible a la erosión y ruptura.

3.2.2.7. Citoquinas proinflamatorias

- FNT alfa
- IL6

3.2.2.8. Activador de fibroblastos y fibrosis cardíaca

- - GALECTINA 3. Es una proteína soluble secretada por macrófagos activados, transportadora de β -galactósido. Su principal acción es activar al unirse a los fibroblastos que forman colágeno y matriz extracelular, que conduce a la fibrosis. La galectina-3 se incrementa significativamente en la insuficiencia cardíaca crónica (aparición aguda o no aguda), independientemente de la etiología cardíaca progresiva. Diferentes estudios dan valor predictivo de mortalidad en pacientes con fallo cardíaco (Yan et al., 2009; De Boer, 2007).

3.2.2.9. Marcadores de Biología Molecular.

- o Gen codificante de leucotrieno B4.
- o Gen codificante de beta-miosina.
- o Gen codificante de troponina T2.
- o Gen codificante de troponina I3.
- o Gen codificante de la enzima convertidora de angiotensina-17q.
- o Gen codificante de receptor alfa2 adrenérgico (Helgadottir et al., 2006).

3.2.2.10. Otros Biomarcadores Metabólicos e inflamatorios.

- Endotelina I (Nessler et al., 2008), miotrofina (Khan et al., 2007), Urotensina II (Khan et al., 2002; Douglas et al., 2002), adrenomedulina (Nishida, 2008), cardiotrofina I (Ng et al., 2002), Urocortina (Ng et al., 2004), Selectina P soluble, Fibrinógeno y Dímero D involucrados en los fenómenos trombóticos cardiovasculares y la disminución del plasminógeno se asocia a riesgo trombótico.

TABLA 2. Relación entre afectación cardíaca y marcadores

Afección Cardíaca	Definición	Biomarcador de screening, test diagnóstico o monitorización
Aterosclerosis/ Inflammación	Una variedad de condiciones relacionadas con el metabolismo lipídico e inflamatorio que afecta de forma aguda o crónica a uno o más componentes del corazón	Colesterol, triglicéridos, HDL, LGL, PCR ultrasensible, APo1, FAP, PLA2, Homocisteína...
Fallo cardíaco crónico (congestión/ fibrosis)	Fallo en la eficiencia del bombeo cardíaco	Electrolitos BNP NT-porBNP Galectina 3
Infarto agudo de miocardio	Oclusión o reducción del diámetro de las arterias cardíacas que reduce por debajo de un punto de corte el aporte sanguíneo del corazón.	Mioglobina CK-MB Troponina T Troponina I Albumina modificada por isquemia

3.2.3. INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

El infarto agudo puede ser considerado desde diferentes perspectivas: Clínica, electrocardiográfica, bioquímica, anatomopatológica, epidemiológica e imagen (French & White, 2004). Históricamente ha habido un acuerdo tácito en cuanto al término “infarto de miocardio”. La definición de la OMS más ampliamente utilizada, requería la presencia de 2 de las 3 siguientes condiciones:

- Síntomas clínicos de infarto de miocardio.
- Elevación de la concentración de marcadores (enzimas cardíacas) en sangre.
- Un patrón típico electrocardiográfico que involucra el desarrollo de ondas Q o cambio persistente en onda T (French & White, 2004).

A su vez y en aras de poder realizar una estrategias en cuanto a un tratamiento inmediato, (tales como terapia de reperfusión), es una práctica habitual para designar IM en los pacientes con dolor de pecho u otros síntomas isquémicos en función de su patrón ECG en:

- IAMCEST (elevación del ST). Desarrollan elevación del ST en dos derivaciones contigua, como en una.
- SCASEST. Pacientes con IM sin elevación del segmento ST.

Muchos pacientes con IM desarrollan ondas Q (IAM con onda Q), pero otros no lo hacen (no-Q IAM) (French & White, 2004).

- **Características anatomopatológicas del IM.**

En patología el IM es definido como la muerte celular del miocardiocito debido a isquemia prolongada. La necrosis completa de las células miocárdicas requiere al menos entre 2-4 horas a veces más dependiendo de la circulación colateral sobre la zona isquémica.

- **Biomarcadores del daño cardíaco por necrosis.**

Los primeros biomarcadores cardíacos tradicionales fueron la LDH y la enzima CK, esta última tiene 2 isoenzimas una de origen muscular “M”, y otra de cerebro “B” y CK-MB que puede distinguirse de la CK total por métodos enzimáticos e inmunológicos.

Para poder hacer una rápida detección después de síntomas propios de IM se desarrollaron test capaces de detectar proteínas con pequeña masa molecular capaz de atravesar membranas y salir más rápidamente al torrente sanguíneo tras la necrosis miocárdica. La Mioglobina con una masa molecular de 17.8 kDa integrada por una sola cadena polipeptídica de 153 AA y un grupo prostético Hemo que contiene hierro similar a la hemoglobina. Es la molécula encargada de extraer de la sangre el oxígeno con capacidad funcional de almacenarlo, si bien esta solo alcanza para algunos latidos. Procede del citoplasma de células musculares esquelética y cardíaca. Aparece

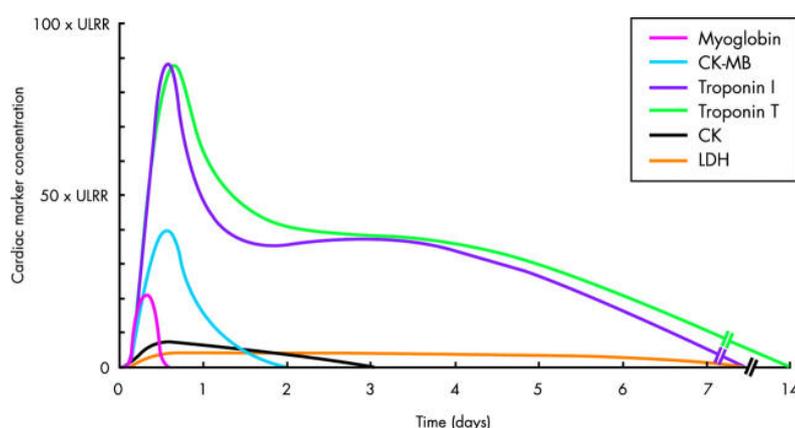
rápidamente en sangre y representa un marcador muy sensible por la precocidad del mismo, aunque poco específico por su aparición en procesos musculo esqueléticos (ej. rabiomiolisis). La curva de disociación es diferente de la hemoglobina uniéndose con mayor facilidad y presentando mayor dificultad para disociación, facilitando la entrada de oxígeno en la célula.

La troponina I es una proteína encontrada en el tejido muscular que en conjunción con la troponina T y C regulan la interacción del Ca^{2+} entre la actina y miosina. 3 isotipos de troponina I se han identificado: uno asociado a las fibras rápidas y delgadas del musculo esquelético, otra a las fibras lentas del musculo esquelético y un tercero cTnI asociado a los filamentos finos del sarcolema del aparato contráctil de la célula y son expresados exclusivamente por el corazón. Esta isoforma cardíaca tiene un residuo adicional de 31 AA en la parte aminoterminal. Estudios clínicos han demostrado que la troponina I cardíaca cTnI es demostrable en sangre 4 a 6 horas después del IAM y se mantiene elevada durante 2 semanas.

Ambos marcadores cTnI y cTnT son altamente sensibles, específicos y pueden elevarse cuando la concentración de CK-MB todavía no la ha hecho.

La lesión miocárdica se detecta cuando los niveles en sangre de un biomarcador sensible y específico como la cTnI, cTnT o la CK-MB (fracción MB de la creatinina Kinasa) está incrementado (Jneid et al., 2013).

Figura 1. Cinética de los marcadores de lesión cardíaca.



Perfil cinético de marcadores cardíacos elevados tras elevación ST en infarto de miocardio. Este perfil es esquemático y no diferencia entre pacientes con una pronta re-perfusión arterial y aquellos que persisten con dicha oclusión arterial. Cuando existe una pronta perfusión la concentración de los marcadores cardíacos se incrementan de forma más rápida, adquiere el pico más rápidamente y con altos valores y regresa a los valores normales más rápidamente. Procedente de French & White, 2004.

Aunque la elevación en sangre de los marcadores troponina Tc o Ic, reflejan la necrosis tisular cardíaca sin embargo no indica el mecanismo productor subyacente (Newby et al., 2012). Varios mecanismos han sido sugeridos para la liberación de proteínas estructurales, incluido el recambio normal de células miocárdicas, apoptosis, liberación de productos de degradación de troponina, incremento de la permeabilidad de la pared celular, formación y liberación de vesículas membranosas y necrosis de miocitos cardíacos (Frangogiannis, 2015). Independientemente de la biopatología, la necrosis miocárdica debida a isquemia miocárdica es definida como IM.

Sin embargo, la mayor sensibilidad de los marcadores cardíacos tejido específicos y de las técnicas de imagen capaz de detectar cada vez más pequeñas cantidades de daño tisular o necrosis así como el mejor manejo de los pacientes con IM, han mejorado significativamente, lo que resulta en menos lesiones del miocardio y necrosis, a pesar de una presentación clínica similar. Por otra parte, parece necesario distinguir las diversas condiciones que puede causar IM, como "espontánea" y aquellas "relacionada con el padecimientos cardíacos previos de IM y patologías" extracardíacas con afección cardíaca.

Debido a todo ello la definición de IM ha precisado actualizaciones a lo largo del tiempo. En el año 2000, el Primer Grupo de Expertos Mundial de IM presentó una nueva definición de infarto de miocardio, lo que implicaba que cualquier necrosis en el proceso de isquemia miocárdica se debe etiquetar como IM (Braunwald et al., 2000a,b).

Estos principios se perfeccionaron aún más por el Segundo Grupo de Expertos mundial de MI, lo que llevó a la definición universal de Infarto de Miocardio Documento de Consenso de 2007, que destacó las diferentes condiciones que pueden conducir a un IM (Thygesen et al., 2007). Este documento, aprobado por la Sociedad Europea de Cardiología (ESC), el Colegio Americano de Cardiología Foundation (ACC), la American Heart Association (AHA) y la Federación Mundial del Corazón (WHF), ha sido bien aceptado por la comunidad médica y aprobada por la OMS.

Tabla 3. Causas de elevación de los valores de troponina cardíaca debido a la lesión miocárdica.

Lesiones relacionadas con la isquemia miocárdica primaria

Ruptura de la placa
Formación de un trombo intraluminal arteria coronario

Desequilibrio de la isquemia miocárdica. Lesiones relacionadas con la oferta / demanda

Taqui-/bradi-arritmias
Diseccción aórtica o valvulopatía aórtica severa
Miocardiopatía hipertrófica
Cardiogénico , hipovolémico o shock séptico
Insuficiencia respiratoria grave
Anemia grave
Hipertensión con o sin hipertrofia ventricular izquierda
Espasmo coronario
Embolia coronaria o vasculitis
Disfunción endotelial coronaria sin enfermedad coronaria arterial significativa

Lesiones no relacionadas con isquemia miocárdica

Contusión cardíaca, cirugía, ablación, marcapasos, desfibriladores o descargas
Rabdomiólisis con afectación cardíaca
Miocarditis
Agentes cardiotóxicos, por ejemplo antraciclina, herceptina

Lesión miocárdica multifactorial o indeterminado

Insuficiencia cardíaca
Estrés cardiomiopatía (takotsubo)
Embolia pulmonar grave o hipertensión pulmonar
Sepsis y pacientes en estado crítico
Insuficiencia renal
Enfermedades neurológicas agudas graves, por ejemplo, derrame cerebral, subaracnoidea
Hemorragia
Enfermedades infiltrativas, por ejemplo, amiloidosis, sarcoidosis
Ejercicio extenuante

- Actual definición de IM

La tercera y última definición universal del Infarto de miocardio fue publicada en la revista *Circulation* en octubre de 2012 (Thygesen et al., 2012). Expresa que la definición del término "Infarto Agudo de miocardio (IAM)" se debe utilizar cuando hay evidencia de necrosis miocárdica en una clínica compatible con isquemia miocárdica aguda.

En las siguientes condiciones, uno cualquiera de los siguientes criterios se encuentra con el diagnóstico de IM:

- La detección de un aumento y/o disminución de los valores de biomarcadores cardíacos [preferiblemente troponina cardíaca (cTn)] con al menos un valor por encima del percentil 99 del límite superior de referencia (URL) y con al menos una de las siguientes situaciones:
 - o Clínica de isquemia cardíaca
 - o Nuevo o presunto nuevo cambio significativo del segmento ST-T u onda (ST-T) o nuevo bloqueo de rama izquierda (BRI).
 - o Desarrollo de ondas Q patológicas en el ECG.
 - o Pruebas de imagen de nueva pérdida de miocardio viable o nueva motilidad anormal regional de la pared cardíaca.
 - o La identificación de un trombo intracoronario por angiografía o autopsia.
- Muerte cardíaca con síntomas sugestivos de isquemia miocárdica y presuntos nuevos cambios isquémicos en el ECG o nuevo BRIHH, pero la muerte cardíaca se produjo antes que se obtuvieran los biomarcadores, o antes que aumentaran los valores de biomarcadores cardíacos.
- La intervención coronaria percutánea (PCI) relacionada con IM se define arbitrariamente por la elevación de los valores de cTn (>5% del 99 percentil URL) en pacientes con valores de línea de base normal (\leq 99 percentil URL) o un aumento de los valores de cTn >20% si los valores iniciales son elevados y están estables o disminuyendo. Además de cualquiera de los ítems son requeridos:
 - o Síntomas sugestivos de isquemia miocárdica
 - o Nuevos cambios isquémicos en el ECG

- Los hallazgos angiográficos en consonancia con una complicación del procedimiento
- Imágenes de demostración de una nueva pérdida de miocardio viable o nuevo movimiento anormal de la pared regional.
- La trombosis del stent asociado con IM cuando se detecta por angiografía coronaria o autopsia en el contexto de la isquemia miocárdica y con una subida y/o caída de los valores de biomarcadores cardíacos con al menos un valor por encima del 99 percentil URL.
- La cirugía de revascularización coronaria (CABG) relacionada con IM se define arbitrariamente por la elevación de los valores de los biomarcadores cardíacos ($>10 \times 99$ Percentil URL) en pacientes con los valores de referencia normales cTn (≤ 99 percentil URL). Además, son requeridos al menos uno de los ítems siguientes:
 - Nuevas ondas Q patológicas.
 - Nuevo BRIHH.
 - Nueva oclusión de nuevo injerto o de la arteria coronaria nativa documentados angiográficamente,
 - Evidencia de imagen de nueva pérdida de miocardio viable o nueva anomalía de movimiento de la pared regional.
- *Criterios para el infarto de miocardio previo*

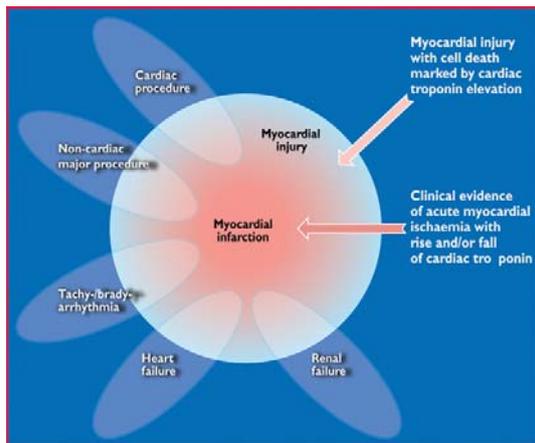
Cualquiera de los siguientes criterios cumple con el diagnóstico de IAM previo:

- Ondas Q patológicas con o sin síntomas en ausencia de causas no isquémica:
- Pruebas de imagen de una región de la pérdida de miocardio viable que se adelgaza y deja de contraer, en ausencia de una causa no isquémica.
- Hallazgos patológicos de un IM previo.

Lesiones histopatológicas de daño tisular miocárdico con necrosis pueden ser evidenciadas asociadas a condiciones clínicas de daño no isquémico. Como asociadas a fallo cardíaco, miocarditis, fallo renal, arritmias, tromboembolismo pulmonar, cateterismo cardíaco percutáneo o procedimientos de cirugía coronaria. Estos no deben ser etiquetados como infarto de miocardio o una complicación de los procedimientos, sino más bien como lesión miocárdica, como se ilustra en la figura 1. Es importante en estas circunstancias distinguir los cambios agudos en las cifras de Tnc las cuales

requieren incrementos o caídas de valores frente a elevaciones crónicas como cardiopatías estructurales que no cambian súbitamente (Thygesen et al., 2010; 2012; De Lemos et al., 2010; Kavsak et al., 2011). Por ejemplo, pacientes con insuficiencia renal crónica pueden tener importantes elevaciones de cTn como se ve en muchos pacientes con infarto de miocardio, pero no cambian de forma aguda (Jaffe, 2006).

Figura 2. Esta figura muestra varias entidades clínicas que pueden estar asociadas con daño celular cardíaco con elevación de troponinas. Independientemente puede estar asociado a IM en caso que exista evidencia clínica. Tomado de Thygesen et al., 2012.



Un listado de tales circunstancias clínicas que presenta elevación cTn se describió en la tabla 3.

El biomarcador preferido por todos para cada una de las categorías de IM es la cTn (I o T) que tiene una alta especificidad para el tejido miocárdico como una alta sensibilidad clínica.

Determinaciones de incrementos o caídas son esenciales en el diagnóstico de un infarto Agudo de Miocardio (Jaffe et al., 2006). Un incremento de la concentración es definida como una elevación del 99 percentil sobre el valor de referencia de la población normal. La precisión óptima se define por el CV siendo este por debajo del 10% en el 99 percentil.

La determinación de cTn debe de estar elevada en la primera toma de muestra de sangre y se debe de repetir la toma de sangre entre las 3 y 6 horas siguientes. Más tarde se requieren muestras si se producen nuevos episodios isquémicos o cuando el tiempo de los síntomas iniciales no está claro (de Lemos et al., 2010). Para establecer el diagnóstico de infarto de miocardio se requiere un incremento o caída de los valores, con al menos un valor por encima del nivel de corte, asociado con una alta probabilidad pre-test. Sin embargo, un patrón de aumento o disminución no es absolutamente

necesario para hacer el diagnóstico de infarto de miocardio si un paciente con un alto riesgo pre-test de IM presenta desde inicio de los síntomas.

Los valores pueden permanecer elevados durante 2 semanas desde el inicio de la necrosis de los cardiocitos (Thygesen et al., 2010).

En caso de que no exista la posibilidad de realizar cTn la prueba indicada sería a CK-MB.

Niveles elevados de suero cTn indican necrosis miocárdica independientemente de la fisiopatología subyacente.

La Tercera definición Universal del Infarto de Miocardio subclasifica a este según diferencias anatomopatológicas, clínicas, pronósticas y terapéuticas en 5 subgrupos:

Tipo 1- Infarto de Miocardio Espontáneo.- Relacionado con la patología de la placa de ateroma (ulceración, erosión, fisura y rotura o disección) con formación de trombo arterial coronario, y la consiguiente necrosis miocárdica por disminución del flujo sanguíneo distal.

Tipo 2- Infarto de Miocardio secundario a un desequilibrio isquémico.- Originado por una disfunción endotelial o vasoespasmo que disminuye el flujo sanguíneo, por aumento de la demanda de oxígeno en un territorio cardiaco en presencia de una placa fija de ateroma responsable de cierta estenosis, o simplemente por circunstancias clínicas que ocasionan aumento de la demanda oxígeno.

Tipo 3- Muerte como consecuencia de Infarto de Miocardio previa a la elevación de marcadores.- Causa cardiaca con clínica y alteraciones electrocardiográficas compatibles con isquemia, producida antes de que los marcadores cardiacos puedan aumentar o ser medidos.

Tipo 4- Relacionado con fases de instrumentalización en los procedimientos de revascularización mecánica coronaria. Ha y subtipos

Tipo 4 A- Infarto de Miocardio relacionado con la intervención percutánea (PCI)

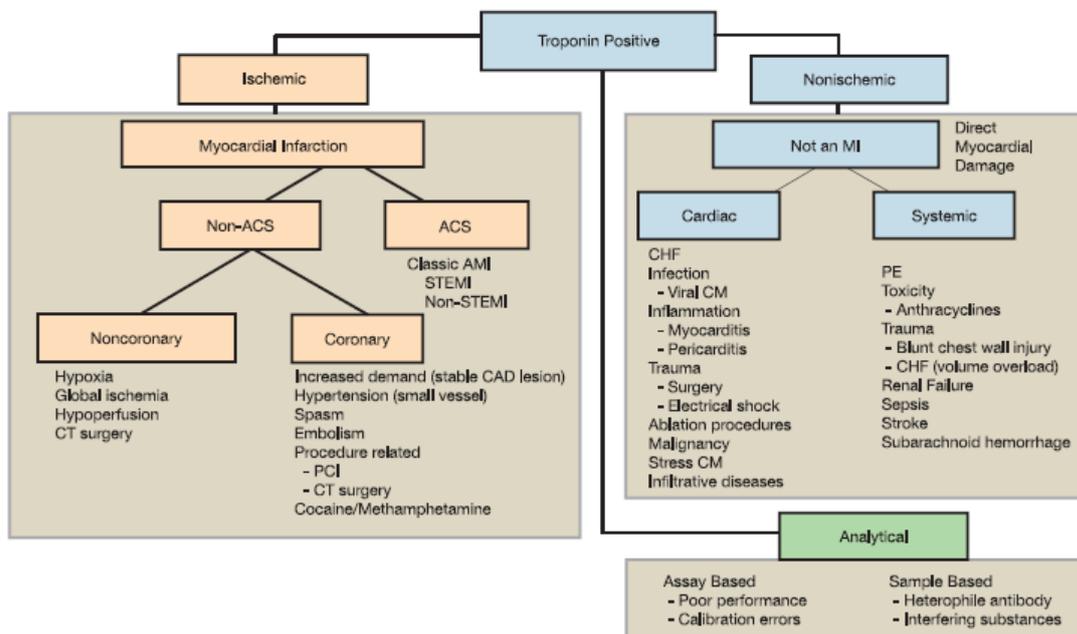
Tipo 4 B- Infarto de miocardio relacionado con la trombosis del stent

Tipo 4 C- Infarto de Miocardio relacionado con la reestenosis del stent

Tipo 5- El infarto de miocardio relacionado con cirugía de revascularización coronaria injerto (CABG)

Tabla 4. Tercera Definición Universal de Infarto de Miocardio	
Tipo 1	Infarto de Miocardio Espontáneo
Tipo 2	Infarto de Miocardio secundario a un desequilibrio isquémico
Tipo 3	Muerte como consecuencia de Infarto de Miocardio previa a la elevación de marcadores
Tipo 4a	Infarto de Miocardio relacionado con la intervención percutánea (PCI)
Tipo 4b	Infarto de miocardio relacionado con la trombosis del stent
Tipo 4c	Infarto de Miocardio relacionado con la reestenosis
Tipo 5	El infarto de miocardio relacionado con cirugía de revascularización coronaria injerto (CABG)

Figura 3. Modelo conceptual de distribución clínica elevación de troponina. Modificado de Newby et al., 2012



ACS: Síndrome Coronario Agudo; AMI: Infarto Agudo Miocárdico; CAD: Enfermedad arterial coronaria; CHF: Fallo congestivo cardíaco; CM: Cardiomiopatía; CT: cardiorrástico; PCI: Intervención coronaria percutánea; PE: Embolismo pulmonar; STEMI: Infarto de miocardio con elevación del segmento ST. Adaptado de: Newby et al., 2012.

3.3.- POLI(ADP-RIBOSA) POLIMERASA-1 (PARP1)

3.3.1. Definición

Las células detectan y responden a los desafíos del ambiente, estableciendo una rápida respuesta de estrés que conlleva la activación de un mecanismo sensor crucial para la supervivencia “la ADP-ribosilación de proteínas” una modificación postranslacional que ocurre primariamente como respuesta al daño del ADN (Luo & Kraus, 2012).

El enzima poli (ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP1), también conocido como ADP-ribosiltransferasa-1, ADPRT-1, o poli(ADP-ribosa) sintasa-1 es una de los enzimas nucleares más abundantes presentes en células eucariotas (excepto levaduras). Desempeñando diversos roles en muchos procesos moleculares y celulares, incluidos detección y reparación del daño DNA, modificación de cromatina, transcripción, vía de activación de apoptosis y división celular entre otros. Descrita por Chambon y colaboradores en 1963 (Chambon & Weill, 1963). Es la isoforma más abundante en la familia PARP (Jagtap & Szabó, 2005; Schreiber et al., 2006; Szábo et al., 2006a; Virág, 2005; Virág & Szábo, 2002). La función del PARP1 es catalizar la transferencia de monómeros de ADP ribosa obtenidos del sustrato NAD⁺ sobre los grupos carboxilos de los aminoácidos lisina, aspártico y glutámico de una serie de proteínas nucleares. La modificación transitoria de las proteínas nucleares por PARP1 constituye una forma de modificación post-transduccional necesaria tanto para la activación como desactivación de de procesos celulares (Kim & Zhang, 2005). La unión de PARP1 a las roturas de ADN activa la capacidad catalítica del enzima actuando en el mantenimiento estructural de la cromatina nuclear.

3.3.2. Estructura

PARP1, es una proteína nuclear de 116 kDa. formada por más de 1014 AA (Virág, 2005). Su estructura se puede dividir en 6 dominios estructurales. Sólo 3 de dichos dominios están bien descritos funcionalmente. A su vez dichos dominios mayores se pueden dividir en subdominios como se puede ver en la (Figura 4). La estructura de la enzima está altamente conservada en células eucarióticas (92% de homología entre hombre y ratón) mostrando un alto grado de homogeneidad entre diferentes especies en el dominio catalítico.

- *El dominio transportador de DNA* (BDB)(*DNA Binding Domain*) localizado en el extremo N-terminal contiene 2 enlaces de cinc (FI), (FI) que a modo de dedos son los responsables de la unión y transporte de DNA y algunas unión proteína-proteína,

además contiene una señal de localización nuclear (NLS). También contiene la secuencia de AA (DEVD) reconocidas por las caspasas 3 y 7 sobre la cual se realiza la escisión proteolítica en la muerte celular apoptótica (Kaufmann et al., 1993; Lazebnik et al., 1994).

- **El dominio de automodificación BRCT**, se extiende desde los residuos de AA 374 al 525 que es común en muchas proteínas de reparación del ADN y del ciclo celular. Contiene residuos de lisina y glutamato altamente conservados donde las moléculas de ADP-ribosa se une covalentemente (90TC) y modulando la actividad enzimática (91TC) haciendo a PARP1 a sí mismo el mayor aceptor de moléculas de ADP-ribosa. Bastantes estudios muestran que este dominio posee bastantes uniones potenciales transportadoras proteína-proteína envueltas en reacciones de homo y heteromodificación (92TC). También incluye el motivo “BRCA1 C-terminus-like” (BRCT), repeticiones de ankyrina, dominios WWE domains (Amé et al., 2004).

- **El dominio catalítico C terminal** se extiende desde el AA 654 al 1014. Contiene el locus del sustrato (NADH⁺) transportador y medio para transferir las moléculas de ADP-ribosa para aceptar proteínas para formar polímeros de ADP-Ribosa (Mazen et al., 1989; de Murcia & Menissier de Murcia, 1994; de Murcia et al., 1994; Schreiber et al., 1995; Szabó, 2000; Smith, 2001) (Figura 4). Contiene también una región llamada PARP *Signature* (firma de PARP) de 50 AA común al 100% de los vertebrados. (Rolli et al., 2000).

Los subdominios C y E son los peor descritos hasta la fecha y se les desconoce la actividad biológica.

La actividad enzimática de PARP1 es muy baja pero es estimulada dramáticamente en presencia de una variedad de activadores alostéricos. Ha sido implicada en muchas funciones pero donde más ha destacado es en la reparación del DNA. Es cómo un interruptor sensor del daño de DNA además de molécula transportadora para uno o ambos trozos de la cadena de DNA fragmentados (D'Amours et al., 1999; Oei & Shi 2001; Kun et al., 2002, 2004; Kim et al., 2004). La actividad enzimática del PARP1 viene dado por la síntesis de un polímero aniónico de ADP-Ribosa (PARP).

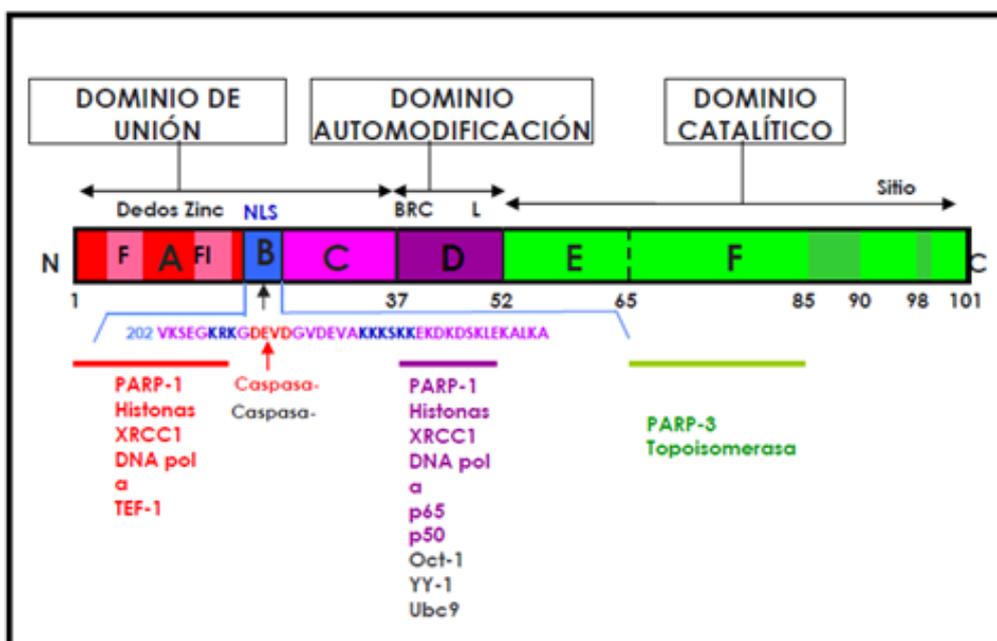
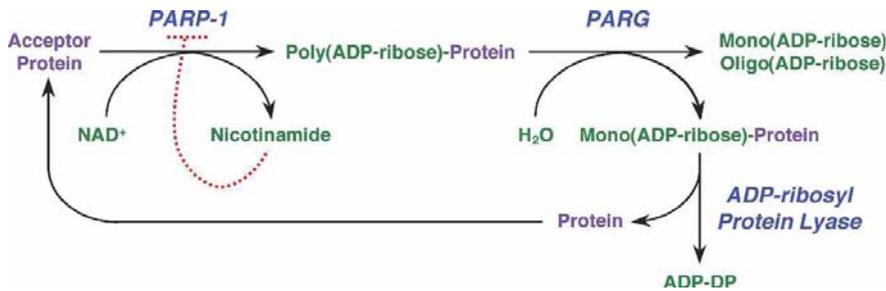


Figura 4. Dominios estructurales de PARP-1. Dominio de unión al ADN (DBD); FI y FII, estructura en dedos de zinc; Secuencia de localización nuclear (NLS); dominio de automodificación y dominio catalítico. Motivo BRCT (*BRCA1 like C-terminus*); lugar de corte de las caspasas-3 y -7; motivo cremallera de leucina (LZ, *Leucine zipper*). Además se indican los posibles sitios de interacción con otras proteínas. Adaptados de (Aguilar-Quesada, Muñoz-Gamez et al. 2007)

Una vez detectado el daño del ADN, PARP1 se une a través de la estructura de los dedos de cinc presentes en el dominio de unión al ADN y se activa. Forma homodímeros principalmente a través de la estructura FII (segundo dedo de cinc) y cataliza la escisión del NAD^+ (β nicotinamida adenina nucleótido) en nicotinamida y monómeros de ADP-ribosa para formar polímeros aniónicos que posteriormente utilizara como sustrato de tamaño variable lineal o de largas ramas ramificado de ADP-ribosa. La unión covalente tiene lugar sobre residuos G glutámico, ácido aspártico y glicina de un número de proteínas diana aceptoras, relacionadas funcionalmente con el DNA (heteromodificación) incluido histonas o sobre si misma PARP1 (dominio automodificador, automodificación). (Schreiber et al., 2006). El principal aceptor de PARP in vivo es el PARP1 (Kim & Zhang, 2005), histonas nucleares, la unión con histonas H1 y una variedad de factores que actúa con la transcripción 1 (Ogata et al., 1981; Huletsky et al., 1989; D'Amours et al., 1999; Kraus & Lis, 2003).

Figura 5. Síntesis y degradación de PAR en una proteína aceptora.

(Esquema tomado de Mi Young Kim, 2000).

La capacidad de formar polímeros de PARP1 varía desde unas pocas unidades hasta 200 monómeros (Álvarez-González et al., 1999) mediante 3 actividades enzimáticas diferentes:

- **Iniciación.** - Transferencia de un resto mono ADP-ribosa sobre el sustrato. Mediante un enlace tipo éster se produce el primer monómero de ADP-ribosa al grupo carboxilo del sustrato, un aminoácido aceptor en las proteínas diana.
- **Elongación del polímero.** - mediante incorporación de nuevas unidades de ADP-ribosa secuenciales unidas a través de enlace glicosídico α 1'' \rightarrow 2'.

La transferencia de moléculas de ADP-ribosa para formar cadenas de poli(ADP-ribosa) lineales.

- **Ramificación del polímero.** - Se produce de una forma irregular con una pauta de ramificación entre cada 20 a 50 unidades de ADP-ribosa de la cadena principal mediante enlace glicosídico 2'' \rightarrow 1' (Schreibert et al., 2006).

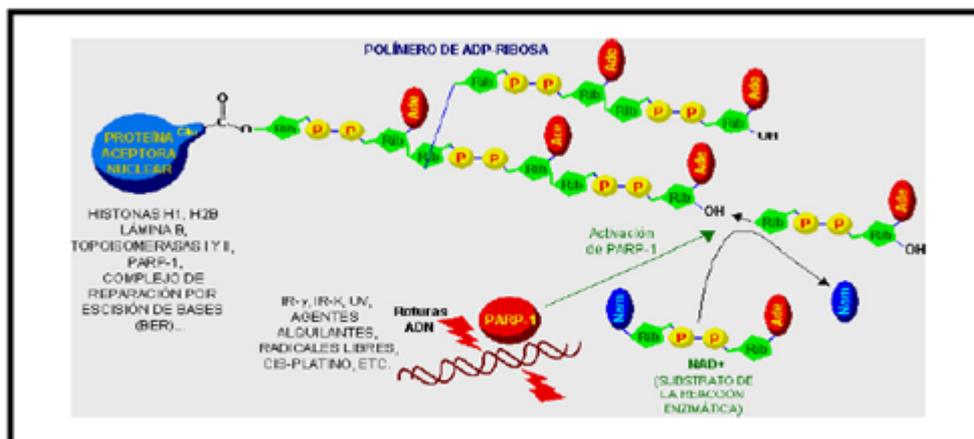
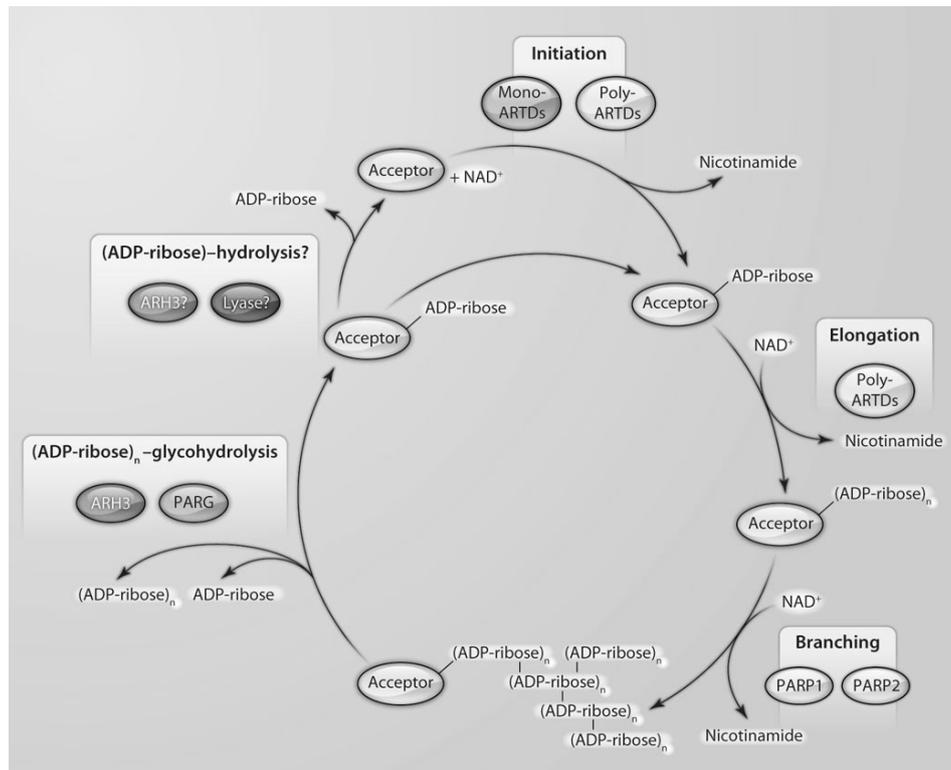


Figura 6 Mecanismo de activación de PARP-1 tras el daño en el ADN. Determinados agentes genotóxicos activan PARP-1. Se muestra el procedimiento de activación, síntesis de polímero a partir de NAD⁺ y la consiguiente modificación de determinadas proteínas nucleares. Adaptados de (Aguiar-Quesada, Muñoz-Gamez et al. 2007)

Poli ADP-ribose es un proceso dinámico, rápido, marcado por una vida media corta (<1 minuto) del polímero (Whitacre et al., 1995). La degradación de PARP1 puede ocurrir en cualquiera de las 3 etapas descritas. El principal enzima con capacidad de hidrolizar polímeros poli(ADP-ribose) es el poli(ADP-ribose) glicohidrolasa (PARG). PARG divide vínculos ribosa-ribose en el polímero para liberar unidades de ADP-ribose. La actividad PARG puede ser modulada por muchos factores tales como la longitud del polímero, la proteína aceptora o la fase del ciclo celular. Cuando la síntesis o concentración de polímeros es alta, se incrementa la actividad de PARG, esto explica la corta vida de estos polímeros en condiciones estimuladas (Davidovic et al., 2001). Otra enzima lítica que escinde el residuo ADP-ribose restante en la proteína aceptora siguiente a la acción PARG es la proteína ADP-ribosilliasa (Virág & Szabó, 2002). Ambas enzimas juegan un papel esencial en la expresión de citoquinas inflamatorias, quimiocinas, moléculas de adhesión, y mediadores inflamatorios. Otras proteína no relacionada estructuralmente con capacidad hidrolizar los enlaces glicosídicos entre las unidades de ADP-ribose es la ADP-ribosylhidrolase 3 (ARH3) (Oka et al., 2006) y la poli(ADP-ribose) fosfodiesterasa que degrada el enlace de fosfato en las células de mamíferos.

Figura 7. Ciclo de la síntesis y la degradación de polímeros poli(ADP-ribosa).

(Iniciación) MonoARTs transfieren el primer resto de ADP-ribosaa partir de NAD^+ a las proteínas aceptoras. (Alargamiento) Para producir cadenas lineales, PARP1 cataliza el polímero de poli lineal (ADP-ribosa). (Ramificación) Producción de cadenas ramificadas, PARP1 también cataliza la formación de vínculos de ribosa α (1" '-2") a ramas principales de ribosa, síntesis de un polímero ramificado poli (ADP-ribosa). (Degradación) de polímeros de poli (ADP ribosa) se degradan rápidamente por PARG o AHR3. El último residuo ADP-ribosa se retira de la proteína, básicamente por una proteína de ADP-ribosilliasa. El enlace pirofosfato en células de mamífero también puede ser degradado por la fosfodiesterasa. (adaptado de Hottiger et al., 2011).

3.3.3. LA SUPERFAMILIA PARP.

Hasta la fecha se han identificado 18 enzimas que muestran homología con la secuencia del dominio catalítico PARP (Amé et al., 2004). Pero solo PARP1 y PARP2 resultan activadas tras el daño en el ADN. PARP1 es el mayor y más caracterizado de la Superfamilia PARP. Se considera una isoforma clave, responsable de la poli -ADP-ribosilación de varias proteínas nucleares. Se localizan en diferentes compartimentos celulares, aunque la función de muchas de ellas aún no está clara. PARP1 -3 y tankyrasas 1-2 son nucleares primarias (Amé et al., 2004), mientras que PARP4 , 6, 8, 9, 13 a 15 se puede también encontrar en el núcleo pero no exclusivamente. Las

funciones de estas proteínas implican muchos procesos celulares, incluyendo la reparación del ADN, la regulación del ciclo celular, proliferación y la mitosis (Amé et al., 2004; Hakme, 2008).

Se ha sugerido una nueva clasificación de los miembros de la familia PARP en tres grupos, sobre la base de las características de su dominio catalítico (Hottiger et al., 2010).

1 - Con actividad poli (ADP-ribosil) transferasa: PARP1-5, que conserva el residuo Glu988 que indica actividad catalítica de PARP35. (PARP5a-y-b son los clásicamente llamadas Tankirasa-1 y -2, respectivamente) (Amé et al., 2004).

2 - Con actividad mono (ADP-ribosil) transferasa: PARP-6-8, 10 -12, 14-16, que han demostrado supuesta actividad monoADPribosiltransferasa.

3 - reportado sin actividad: PARP-9 y 13, que han sido notificado como inactivo porque carecen residuos de unión de NAD^+ al glutamato catalítico (Aguilar et al., 2005).

PARP2 y PARP3 son los dos miembros más cercanos de PARP1 que también se cree que están relacionados con la reparación del ADN.

PARP2 (62kDa) se descubrió como resultado de la presencia de actividad ADP-ribosilación residual tras daño en ADN en fibroblastos embrionicos de ratones sin actividad PARP1 (Shieh et al., 1998; Amé et al., 1999). Es el segundo miembro más descrito y junto con PARP1 los únicos que tras daño de ADN poseen actividad poliADPribosiltransferasa. Ambos poseen funcionalidades similares. De hecho PARP2 está implicado en el 10% de la síntesis total de poliADPribosilación tras la activación por daño de ADN, siendo baja la abundancia y/o actividad catalítica de esta enzima 88. Las células PARP2^{-/-} muestran defectos en la reparación del ADN confirmando su implicación en la reparación a pesar de su reducida capacidad de sintetizar PARP. La cristalización de su estructura es muy similar a la de PARP1 (69% de homología en el dominio catalítico) excepto en la estructura alrededor del DBD. Presenta algunas diferencias en el dominio de modificación que se traduce en la diferencia de las proteínas a las cuales se asocia, como diferencias en el dominio de unión al ADN (Amé et al., 2004) las cuales refleja diferencias en términos de afinidad para el sustratos y/o hebra de ADN fracturada. Ambas PARP no solo presenta funciones solapadas sino también complementarias. En este sentido PARP1 ha sido descrito para poliADPribosilar preferentemente el receptor H1 de la histona mientras que el PARP2 el núcleo de la histona (Oliver et al., 2004). Ambas pueden interaccionar y heterodimizar con la mayoría de proteínas nucleares. También PARP2 actúa como un

modificador de la estructura de la cromatina e interactúa con PARP1 en los procesos de reparación modificados por BER (sistema de reparación por escisión de bases) y SSBR (sistema de reparación de estructura simple de cadena). Además interactúan como proteínas implicadas en la estructura del cinetocoro y el punto de control del uso mitótico.

3.3.3.1.PARP

Consiste en único N-terminal de 39 amino ácidos seguido por el dominio homólogo de PARP (la región identificada como dominio homólogo de PARP es el dominio catalítico de PARP1 entre AA 524-1014) siendo la proteína más pequeña de la familia PARP. La actividad de esta proteína es apenas detectable. Interacciona con PARP1 en el centrosoma lo que sugiere una relación entre los mecanismos de supervivencia a través de reparación de daños de ADN y los puntos de control de fidelidad mitótica (Kanai et al., 2003). Por acercamiento proteómico, PARP3 fue encontrado formando complejos con reparación de ADN como ADN-PKcs, PARP1, DNA ligasa III, DNA ligasa IV (Ku70, & Ku80112). Ha sido caracterizado como una mono ADP-ribosiltransferasa con capacidad por sí mismo de ribosilar ADP e histonas H1 y con capacidad de activar PARP1 (Loseva, 2010).

La proteína VPARP con un tamaño de 196,2 kDa es la más grande de la familia. Esta proteína está asociada con proteínas “*vault*” Bóveda. Su función no está bien definida pero se cree que participa en el transporte celular y puede estar asociada a resistencias a drogas (Kickhoefer et al., 1999; Scheffer et al., 2000). Además esta proteína está localizada en los poros nucleares y asociada al huso mitótico durante la fase de mitosis. Bóveda de PARP (VPARP) no tiene ninguna DBD, y el extremo N terminal está ocupado por un motivo BRCT. El enzima tiene un NLS que reside en la parte C-terminal.

La Tankirasas 1 y 2 están asociadas con proteínas teloméricas, interactúa con las mismas proteínas (TRF1, Glut4, IRAP, etc.). Posee relación con el tráfico de vesículas (en concreto glucosa) (Smith & de Lange, 2000) presentándose en múltiples localizaciones subcelulares, poros nucleares, telómeros, en las vesículas de Golgi, etc. Poseen un alto grado de homología 85% y sólo difieren en el (HPS). El extremo N tiene una histidina--prolina, y rica en serina (HPS) región o dominio N-terminal (NTD), respectivamente. Las partes restantes [repeticiones de ankyrina, motivos estériles alfa (SAM), y dominios catalíticos] son básicamente los mismos (Figura 8).

Figura 8. La comparación de las estructuras de dominio de algunas enzimas. Tomada de Virág & Szabó, 2002.

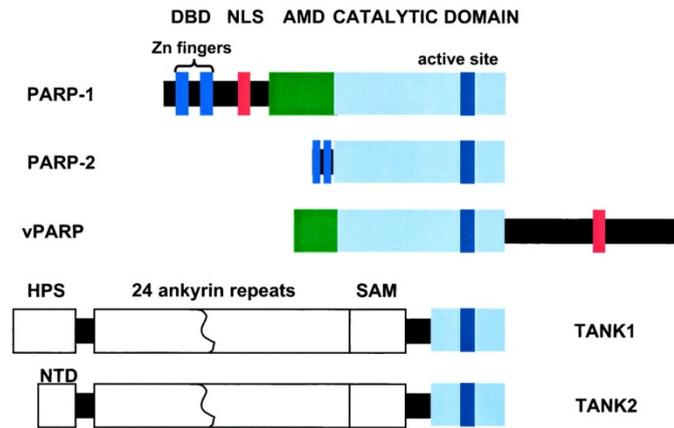
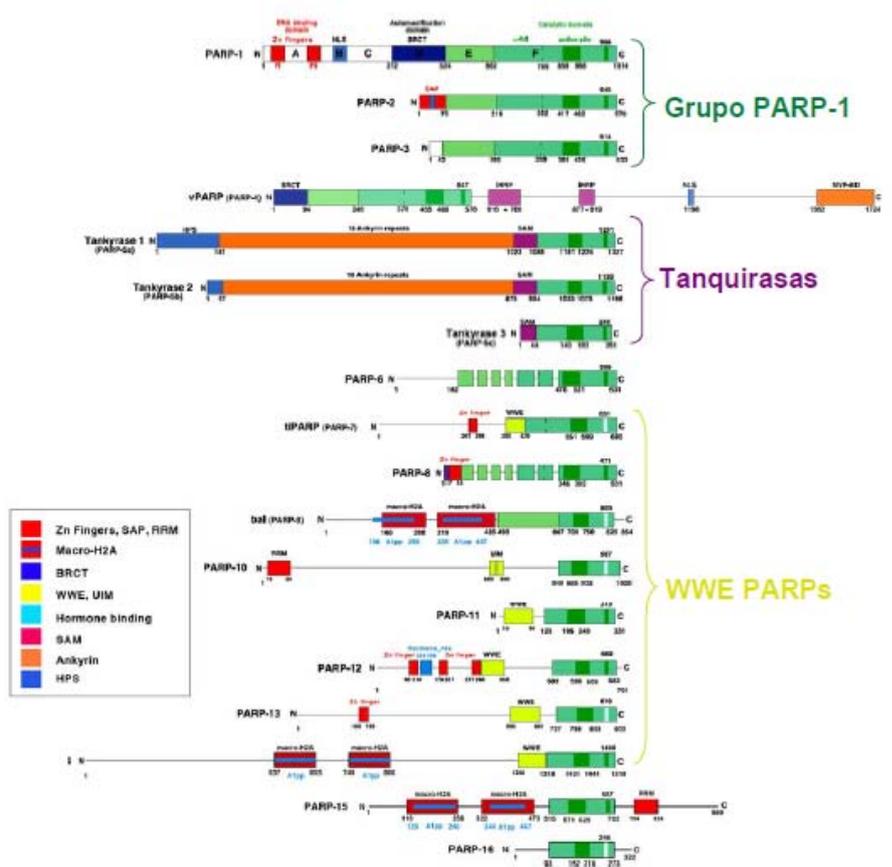


Figura 9. Esquema de familia PARP. Adaptada de Amé et al., 2004.



PARP7 No está clara su función se cree que participa en la función de linfocitos T (Katoh & Katoh, 2003), además en la modificación de PARP de ciertas histonas.

Los inhibidores de PARP no son específicos de cada proteína y su empleo produce una inhibición de todas las familias, esto es debido a su gran homología en el dominio catalítico, blanco de acción de los inhibidores químicos PARP-. Los únicos miembros de la familia que tienen actividad reparadora del daño del ADN son PARP1 y 2 y su inhibición es la responsable de la sensibilización frente a la terapia antitumoral del daño de agentes genotóxicos

3.3.4. FUNCIÓN

Son múltiples las funciones dentro del PARP1 (Amé et al., 2004); Se han identificado 18 proteínas que presenta homología dentro del dominio catalítico pero con diferentes función, estructura y localización funcional (Figura 10) (Miwa & Masutani, 2007).

Las podemos clasificar en función de las dianas y la actividad enzimática del PARP1 en: 1) Proteínas de reparación celular y mantenimiento de la integridad genómica; 2) Muerte celular; 3) Factores relacionados con la estructura de la cromatina y regulación de la transcripción; 4) Otras funciones. La principal y más estudiada la primera:

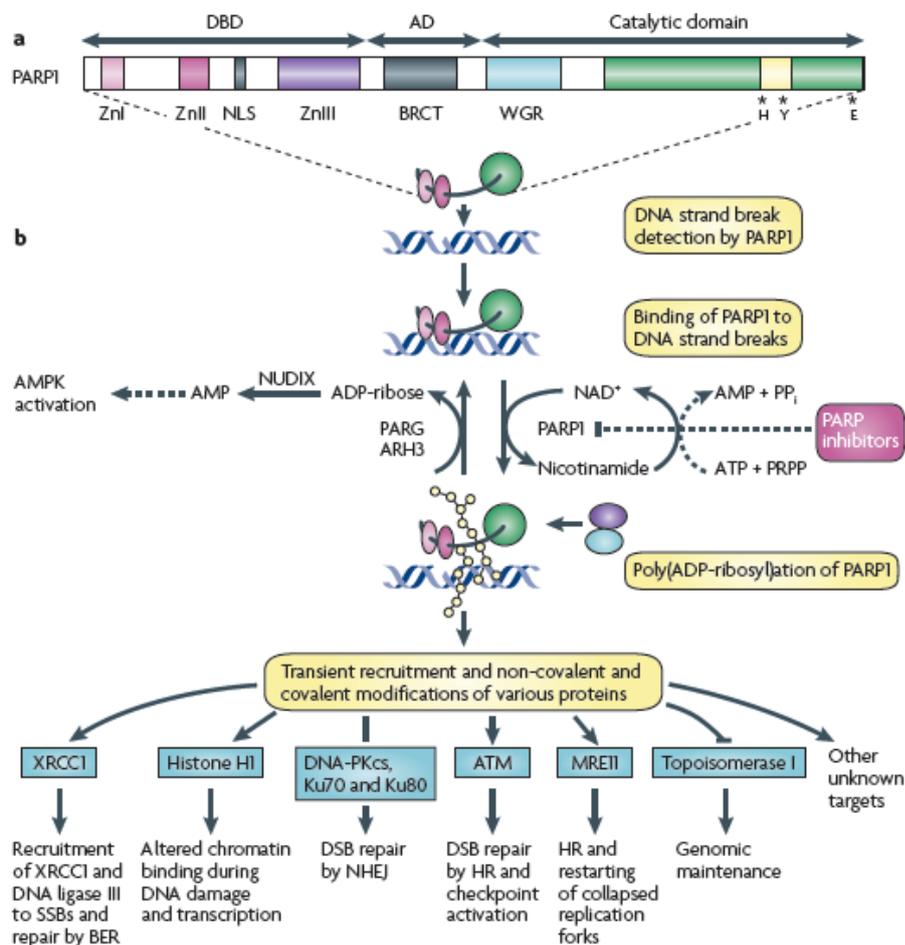


Figure 10 **Structural and functional characteristics of PARP1.** **a** | Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) shown with its DNA-binding (DBD), automodification (AD) and catalytic domains. The PARP signature sequence (yellow box within the catalytic domain) comprises the sequence most conserved among PARPs. Crucial residues for nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) binding (histidine; H and tyrosine; Y) and for polymerase activity (glutamic acid; E) are indicated. **b** | Consequences of PARP1 activation by DNA damage. Although not shown to simplify the scheme, PARP1 is active in a homodimeric form^{116,117}. PARP1 detects DNA damage through its DBD. This activates PARP1 to synthesize poly(ADP) ribose (pADPr; yellow beads) on acceptor proteins, including histones and PARP1. Owing to the dense negative charge of pADPr, PARP1 loses affinity for DNA, allowing the recruitment of repair proteins by pADPr to the damaged DNA (blue and purple circles). Poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) and possibly ADP-ribose hydrolase 3 (ARH3) hydrolyse pADPr into ADP-ribose molecules and free pADPr. ADP-ribose is further metabolized by the pyrophosphohydrolase NUDIX enzymes into AMP, raising AMP:ATP ratios, which in turn activate the metabolic sensor AMP-activated protein kinase (AMPK). NAD⁺ is replenished by the enzymatic conversion of nicotinamide into NAD⁺ at the expense of phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) and ATP. Examples of proteins non-covalently (pADPr-binding proteins) or covalently poly(ADP-ribosyl)ated are shown with the functional consequences of modification (reviewed in REF. 20). It is important to note that many potential protein acceptors of pADPr remain to be identified owing to the difficulty of purifying pADPr-binding proteins *in vivo*. PARP inhibitors prevent the synthesis of pADPr and hinder subsequent downstream repair processes, lengthening the lifetime of DNA lesions. ATM, ataxia telangiectasia-mutated; BER, base excision repair; BRCT, BRCA1 carboxy-terminal repeat motif; DNA-PKcs, DNA-protein kinase catalytic subunit; DSB, double-strand break; HR, homologous recombination; NHEJ, non-homologous end joining; NLS, nuclear localisation signal; PP_i, inorganic pyrophosphate; SSB, single-strand break; Zn, zinc finger.

Figura procedente de Miwa & Masutani, 2007.

3.3.4.1. Proteínas de reparación de ADN y mantenimiento de la integridad genómica.

PARP1 es un sensor interruptor molecular de daño de ADN. Como resultado de la inestabilidad inherente de la cadena sencilla del ADN bien por causas endógenas como tóxicos productos del metabolismo o exógenas por ejemplo radiaciones ionizantes, agentes alquilantes u oxidantes aunque recientemente también se han descrito otros estímulos diferentes como procesos infecciosos, estrés y derivados de hormonas esteroideas, o indirectamente tras la iniciación de la reparación de la escisión de bases BER, además si estas roturas persisten pueden convertirse en daño de doble hélice (Horton et al., 2008). Este daño bien por unión o roturas, sean estas por daño de bases o ruptura directa del esqueleto azúcar fosfato, cuando se activa, su actividad catalítica aumenta 500 veces, produciéndose una respuesta molecular bioquímica inmediata, se une al ADN dañado a través del doble dedo de cinc teniendo un importante papel en la configuración espacial y temporal de su reparación (Kim et al., 2005).

Para la reparación utiliza la ruta de cadena sencilla SSBR o reparación de escisión de Bases (BER). A través de esta unión se produce un cambio en el remodelado espacial de PARP1 que activa el dominio catalítico y dispara su actividad enzimática.

Sobre las Histonas la Poli(ADP-ribosilación) entrega cargas negativas a histonas dirigiendo la repulsión electrostática sobre histonas y ADN, un proceso implicado en la apertura o relajación de la fibra de cromatina de 30 nm, incrementando el acceso y

señalización del daño del ADN, estableciéndose un reclutamiento de factores SSBR o/y BER sobre el lugar de la lesión permitiendo la supervivencia celular e integridad genómica de la misma (Schreiber et al., 2006; Dantzer et al., 2006).

PARP1 también es activado por la rotura de cadena de doble hélice DsBs (Miwa & Masutani, 2007) las cuales pueden ser reparadas a través de 2 rutas, dependiendo del contexto del daño del ADN: mediante recombinación homologa (HR) mecanismo libre de errores o por unión a extremos no homólogos (NHEJ) (Kanaar & Wyman, 2008). Más del 90% de las DBS en los mamíferos utilizan la vía NHEJ (Hakem, 2008).

El ADN que no se repara adecuadamente crea una inestabilidad genómica que puede dar lugar a carcinogénesis (Hakem, 2008).

Figura 11. Múltiples funciones de PARP1 en la respuesta frente a la lesión del ADN.

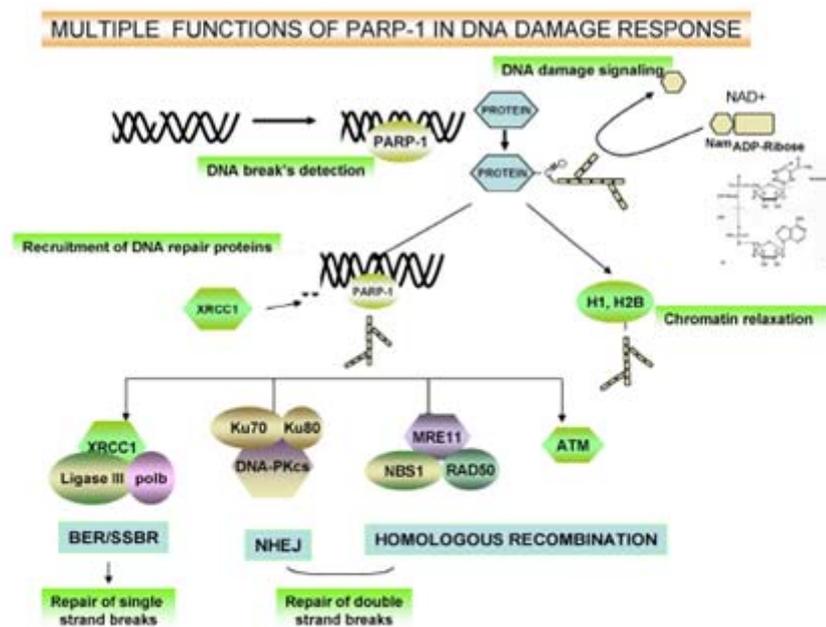


Figura 11 Papel de la poli (ADP-ribosilación en la respuesta al daño en el ADN. PARP-1 detecta roturas en el ADN e inicia la síntesis de un polímero ramificado de ADP-ribosa (Pezzella, Pastorino et al.) sobre los residuos de glutamina, ácido aspártico y lisina de las proteínas aceptoras. La poli(ADP-ribosilación de PARP-1 (automodificación) permite el reclutamiento de proteínas de reparación que contienen un dominio de unión a poli (ADP-ribosa) en el sitio del daño. La poli (ADP-ribosilación de las proteínas que reclutan a PARP-1 permite la apertura de la estructura de la cromatina. Adaptado por (Dantzer, Noel et al.).

Debido a la alta carga negativa del polímero altera las propiedades físico-químicas de los aceptores, como su afinidad de unión al DNA o proteína-proteína (Rouleau et al., 2004). Además la interacción PARP1 proteína-proteína puede influir en numerosos procesos celulares (Ame et al., 2004).

Hasta hace poco, se pensaba que la regulación de PARP ocurre principalmente a nivel de rotura del ADN, sin embargo actualmente se han proporcionado pruebas de que la actividad de PARP1 también puede ser modulada por varios factores, endógeno y exógenos, incluyendo diversas quinasas, estrógenos, hormonas tiroideas, formas activas de vitamina D, poliaminas, purinas, y metabolitos de cafeína (Szabó et al., 2006a); o factores relacionados con la transcripción que interacciona con PARP1 (Huletsky et al., 1989; D'Amours et al., 1999; Kraus & Lis, 2003), por otro lado el estrés oxidativo induce sobreexpresión de PARP, consumo de NADH^+ y consecuentemente ATP.

PARP ha sido también visto y asociado con numerosos factores de transcripción: Un punto de especial interés es el realzamiento de factores de replicación DNA, y moléculas de señalización han sido también demostrado para convertirse en poli(ADP-ribosilado) por PARP[NF- κ B (Oliver et al., 1999), AP-2 (Kannan et al., 1999), Oct-1, YY1 (Oei & Shi, 2001a; 2001b), B-MYB (Cervellera & Sala, 2000). Los efectos de PARP1 sobre la función de estas proteínas son conseguidas por uniones no covalentes proteína - proteína o por acción covalente poli(ADP-ribosilado).

3.3.4.2.- Muerte Celular

En contraste con el rol de supervivencia celular cuando existe presencia de bajos niveles o moderado de DNA dañado, PARP1 actúa como un factor de supervivencia detectando su daño y reparándolo evitando el arrastrar genes mutados. En condiciones fisiopatológicas cuando el daño de DNA es extenso actúa promoviendo la muerte celular, así como inhibición química o delección de PARP1 para proteger de la lectura aberrante de DNA, incluyendo el daño por infarto cardíaco e isquemia/reperfusión entre otros. (Szabó & Dawson, 1998; Shall & de Murcia, 2000). La intensidad del estímulo genotóxico determina el destino celular reparación/muerte (Jagtab & Szabó, 2005).

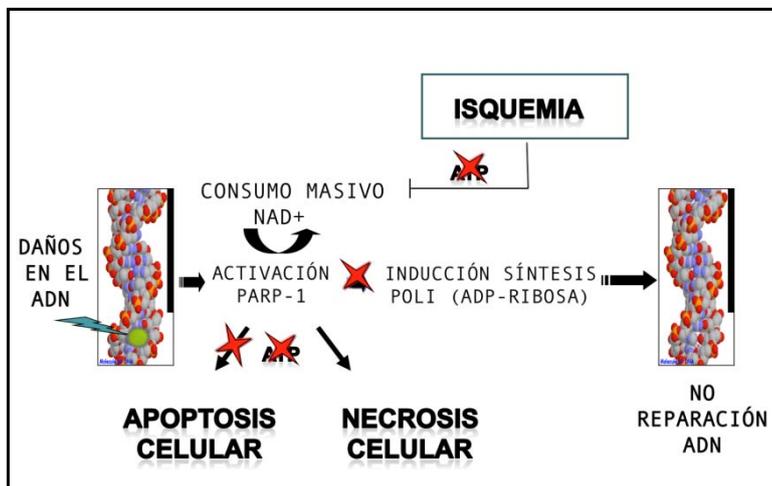
La muerte cardíaca puede tomar 2 vías:

- La necrosis es un proceso pasivo consistente en la destrucción de la membrana celular con extravasación de su material a los tejidos originando un proceso inflamatorio
- Muerte celular programada. Si bien hoy conocemos varios tipos de muerte celular programada solo nos vamos a fijar en la apoptosis,- En respuesta a señales

consistente en autólisis con la formación de vesículas de fragmentos celulares (cuerpos apoptóticos) que son eliminados por las macrófagos y tejidos vecinos sin inflamación sin inflamación. El “motivo DEVD” de PARP1 es el responsable del reconocimiento para que se produzca la fragmentación por parte de la caspasa 3 y 7 de PARP1 en 2 fragmentos, uno de 24 y otro de 87 kDa. Además el corte de la caspasa produce la separación del dominio catalítico del ADN. Además estos fragmentos producen una retroinhibición sobre la enzima intacta produciendo no proteolizada impidiendo su homodimerización y unión al ADN (Kim et al., 2000). También existe una vía caspasa independiente a través de flavoproteína de la membrana intermitocondrial (Yu et al., 2002; Chiarugi & Moskowitz, 2002).

Se han propuesto diferentes mecanismos que expliquen que se active la vía de apoptosis o necrosis. Uno de ellos va a depender de la hipersíntesis de PARP por PARP1 proporcionando energía suficiente a la célula (NAD^+ y ATP) para seguir la vía de la apoptosis mediante la activación de la caspasa o la depleción de la energía con vía hacia la necrosis (Decker & Muller, 2002; Bouchard et al., 2003).

Figura 12. Papel de PARP1 en la inflamación. Respuesta celular a los daños en el ADN.



Este mecanismo de suicidio celular ha sido también implicado como trazador en el patomecanismo de isquemia miocárdica, diabetes, diabetes asociada a disfunción cardíaca, shock, daño neurocerebral traumático, artritis, colitis, encefalitis alérgica y varias otras formas de procesos inflamatorios.

3.3.5. Expresión y activación y control de la maquinaria transcripcional

La forma en que PARP reconoce las lesiones, su mecanismo de transporte y esteicométrico sobre la interacción del daño de ADN es mediado por el tandeen repetitivo de 2 dedos de cinc del dominio N-terminal, el cual es suficiente para reconocer secuencias de estructura de DNA independientes o aberrantes. Incluyendo roturas en hebras de filamento simple (SSB) o doble (DSB) (Virág, 2005). La estructura por rayos X sobre los dedos de cinc (FZs) del dominio (FZI y FZII) unidos al ADN han sido la primera señal de cómo PARP interacciona con el DNA.

Aunque ZFII es dispensable para la actividad PARP1 in vitro. Contribuye fuertemente en la cooperación del reconocimiento del ADN dañado in vivo e in vitro, es cien veces más eficiente que FZI.

La regulación de transcripción de genes específicos PARP1 se ha demostrado en varios contextos fisiológicos usando una variedad de métodos experimentales. Incluyendo los ensayos de transcripción in vitro, ensayos con genes trazadores basados en células, RNAi, y la supresión de genes in vivo (D'Amours et al., 1999; Hassa & Hottiger, 2002; Kraus & Lis, 2003). A partir de estos estudios, al menos se han propuesto dos mecanismos diferentes para la regulación de la transcripción por PARP1: (1) modulando la estructura de la cromatina, y (2) actuando como parte de potenciador / promotor de complejos de unión específico al gen (Kraus & Lis, 2003). En cada caso, los objetivos de la actividad enzimática PARP1 difirieron.

Además de las funciones están la regulación de la transcripción, la cohesión de los telómeros, la formación del huso mitótico durante la división celular y el metabolismo de energía intracelular, en la regulación del tráfico intracelular de proteínas celulares clave tales como p53 y el factor nuclear kappa B (NF-kB). (Abd Elmageed, 2012).

También mayoría de los mecanismos moleculares que regulan la transcripción del gen PARP1 se lleva a cabo a nivel enzimático del propio PARP1 preexistente

La expresión de PARP1 está relacionada con la proliferación celular de forma que su RNAm está aumentado durante la fase G1 del ciclo celular (Menegazzi et al., 1988; Bhatia et al., 1995)

3.3.6. PARP1 en la inflamación

PARP1 está relacionado con los procesos patológicos derivados de diferentes respuestas inflamatorias. Se ha demostrado que la inhibición farmacológica de PARP1 o bien su

bloqueo genético, confiere protección frente a estos fenómenos. Se ha comprobado en numerosos modelos experimentales, tales como aquellos derivados de daños por I/R, shock séptico o hemorrágico, diabetes y procesos inflamatorios crónicos (Virág & Szabó, 2002; Szabó & Dawson, 1998; Oliver et al., 1999). Una característica común a todos estos procesos relacionados con la inflamación es la liberación de mediadores proinflamatorios y la formación de radicales libres. Consecuencia de ello, es la formación de radicales superóxido (O_2^-) e hidroxilo (OH^-) que interactúan con el óxido nítrico sintetizado (producto de la actividad de la isoforma inducible de la óxido nítrico sintasa, iNOS) dando lugar a peroxinitrito ($ONOO^-$). Este compuesto es un potente activador de PARP1 que ocasiona depleción energética en la célula y por tanto necrosis, favoreciendo los procesos inflamatorios. Simultáneamente, este agente genotóxico activa también diversos factores de transcripción, tales como NF- κ B y AP-1, dando lugar a un aumento de expresión de genes dependientes de estos factores implicados en diversos procesos tales como inflamación, angiogénesis, respuesta inmune, estrés oxidativo, además de controlar la expresión de genes que codifican para proteínas antiapoptóticas, moléculas de adhesión celular, proteínas de señalización celular. La expresión de mediadores proinflamatorios dependientes de la anterior expresión génica, a su vez, recluta más células (PMN neutrófilos) al foco inflamatorio, aumentando los efectos del estrés oxidativo, de manera que se produce una retroalimentación positiva que amplifica enormemente este estado.

En esta cascada inflamatoria ocasionada por la sobreactivación de PARP1 hay que tener en cuenta también el efecto que esta proteína tiene sobre la activación de los mencionados factores de transcripción. Un hecho demostrado es que los ratones deficientes en la proteína PARP1 muestran un mayor grado de protección frente a patologías asociadas con procesos inflamatorios debido al menor status oxidativo ofrecido ante este estímulo una disminuida activación de factores de transcripción dependientes de PARP1 e implicados en estos procesos (Szabó et al., 1997; Conde et al., 2001).

3.3.7. Papel del PARP1 en cardiopatías y estrés oxidativo

En las enfermedades cardíacas y estrés oxidativo (Szabó et al., 1996; 2004) hay altos factores de evidencia en estudios experimentales realizados en cultivos, y animales que los radicales libres de oxígeno y nitrógeno son generados en las cardiomiocitos y

células endoteliales durante el daño isquemia/reperfusión cardíaca, en varias formas de fallo cardíaco, cardiomiopatías, shock circulatorio, envejecimiento cardiovascular, complicaciones diabéticas, miocardiopatías hipertróficas, aterosclerosis y remodelación vascular después del daño cardíaco. Detección inmunohistoquímica de poli(ADP-ribosa) demuestra que PARP es rápidamente activado en la reperfusión del tejido cardíaco (Pieper et al., 2000; Liaudet et al., 2001b). Esta activación no se produce más tarde de 2 horas y continua bastante hasta 24 después de la reperfusión (Pieper et al., 2000; Liaudet et al., 2001b). Este patrón de retraso y mantenimiento en la activación de PARP es debido a la continua presencia de radicales libres tras la reperfusión miocárdica. La zona donde había más PARP activación era el área de necrosis y en la zona periinfarto. La mayoría de la tinción de PARP fue vista en los miocitos cardíacos (Pieper et al., 2000; Liaudet et al., 2001b) lo que indica que los cardiocitos producen PARP por sí solos además de la infiltración de células mononucleares implicadas en la activación.

La auto-inducción de PARP por los cardiocitos inducida tras isquemia/reperfusión puede ser atenuada por inhibidores farmacológicos de PARP (Szabados et al., 2000).

Formación de peroxinitrito fue evidenciada en plasma de la parte de zona isquémica cardíaca reperfundida mediante oxidación de dihydrorhodamina-123 y formación de nitrotirosina (Zingarelli et al., 1997a).

Estos radicales libres producen oxidación y daño del DNA y como consecuencia activación de la enzima PARP1 la isoforma más abundante de la familia PARP.

Resultado del daño miocárdico tras isquemia es la elevación del marcador creatin fosfoquinasa en plasma medido tras la reperfusión. Los valores de este marcador relacionado con el área afectada. La inhibición farmacológica de PARP con 3-aminobenzamida mejora significativamente la disfunción miocárdica. Esta es evidenciada por la reducción de los niveles de creatin fosfoquinasa, disminución del tamaño del infarto y preservando el pool de ATP (Zingarelli et al., 1997a).

El uso de ratones transgénicos en el cual faltan los genes funcionales PARP han proveído la oportunidad para definir el rol de PARP en el daño miocárdico así como otros mecanismos descritos anteriormente. Usando este modelo murino de daño miocárdico tras una reperfusión temprana se ha encontrado que la ausencia de funcionalidad de los genes PARP resulta en una significativa protección del daño cardíaco tras reperfusión. (Zingarelli et al., 1998).

Un resumen de varios estudios sobre la inhibición farmacológica del daño cardíaco por inactivación de PARP se muestra en la tabla 5.

PARP1 se ha descrito como un interruptor entre necrosis/apoptosis a través del contenido energético celular (Los et al., 2002; Virag & Szabo, 2002).

La importancia de PARP en el mecanismo patogenético del daño miocárdico de la isquemia-reperfusión sigue 2 vías.

- Una inhibición del componente energético mediado por PARP en la disfunción celular (Docherty et al., 1999; Szabados et al., 1999a; Pieper et al., 2000).
- La supresión de varias vías proinflamatorias incluidas las citoquinas y formación de expresión de receptores como el reclutamiento de neutrofilos y protección de la pérdida de la función endotelial (Zingarelli et al., 1997a; 1998; Yang et al., 2000).

Ambas vías contribuyen al efecto cardioprotector.

Tabla 5. Modelos experimentales de protección cardíaca por inhibición de PARP.

<i>Protection against various forms of cardiac injury by pharmacological inhibition or genetic inactivation of PARP in vitro and in vivo</i>				
Experimental Model	Inducer of Injury	Mode of PARP Inhibition	Effect of PARP Inhibition	References
Rat cardiomyocytes	H ₂ O ₂	3-AB	Improved cellular ATP levels, protection against the reduction of action potential durations	Bhatnagar, 1997
Rat cardiomyoblasts	H ₂ O ₂ , peroxyxynitrite, hypoxia reoxygenation	3-AB, nicam, ISQ	Reduction of cell necrosis, improvement of mitochondrial respiration	Gilad et al., 1997; Bowes et al., 1999
Human cardiomyoblasts	H ₂ O ₂	3-AB, nicam, ISQ	Reduction of cell death	Bowes et al., 1998a,b
Mouse heart	Global I/R	PARP ^{-/-} phenotype	Reduction of NAD ⁺ consumption, suppression of LV dysfunction	Grupp et al., 1999; Pieper et al., 2000
Rat heart	Global I/R	BGP-15, ISQ	Reduction of NAD ⁺ and ATP catabolism, reduction of LV dysfunction	Docherty et al., 1999; Szabados et al., 2000
Rat heart	Global I/R	BGP-15,3-AB, nicam	Improved ATP and CK recovery	Halmosi et al., 2001
Rat heart	Global I/R	Lipoamide (antioxidant)	Reduction of myocardial damage	Szabados et al., 1999a
Rat heart	Regional I/R	3-AB	Decrease of infarct size	Bowes et al., 1999
Rabbit heart	Global I/R	3-AB	Decrease of infarct size, reduction of LV dysfunction	Thiemermann et al., 1997
Mouse	Regional I/R	PARP ^{-/-} phenotype	Decrease of infarct size, neutrophil infiltration, and circulating IL-10, TNF α , and nitrate; reduction of P-selectin/ICAM-1 expression	Zingarelli et al., 1998; Yang et al., 2000
Mouse	IPC	PARP ^{-/-} phenotype	Suppression of the benefit of IPC	Liaudet et al., 2001c
Rat	Regional I/R	3-AB, GPI 6150	Preservation of myocardial ATP stores, decrease of infarct size, reduction of LV dysfunction, reduction of neutrophil infiltration	Zingarelli et al., 1997a; Pieper et al., 2000; Liaudet et al., 2001b
Rat	Regional I/R	5-AIQ	Reduction of infarct size	Wayman et al., 2001
Rat	Heart transplant	5-AIQ, PJ34	Improved contractile function reduced ICAM-1 expression	Szabo et al., 2002
Rat	STZ diabetes	PJ34	Improved contractile function	Pacher et al., 2002b
Mouse	NOD diabetes	PJ34	Improved contractile function	Pacher et al., 2002b
Rat	Doxorubicin	PJ34	Reduced myocyte death, improved contractile function, protection from mortality	Pacher et al., 2002a
Mouse	Doxorubicin	PARP ^{-/-} phenotype	Improved contractile function	Pacher et al., 2002a
Rabbit	Regional I/R	3-AB, nicam, ISQ	Decreased infarct size	Thiemermann et al., 1997
Pig	Regional I/R	3-AB, PJ34	Decreased infarct size, improvement of LV function	Bowes et al., 1998b; Faro et al., 2001
Rat	Chronic ischemia	PJ34	Reduced hypertrophy improved cardiac function	Pacher et al., 2002e

LV, left ventricle; 3-AB, 3-aminobenzamide; 5-AIQ, 5-aminoisquinolone; nicam, nicotinamide; I/R, ischemia-reperfusion; STZ, streptozotocin; IPC, ischemic preconditioning.

El Potencial terapéutico del inhibidor de Poli(ADP-ribosa)polimerasa. Tomado de Virág & Szabó, 2002.

Un panorama de las múltiples funciones y mecanismos subyacentes de la activación PARP1 está involucrado críticamente en la formación y desestabilización de las placas ateroscleróticas tanto en modelos experimentales animales como en los seres humanos. La reducción de la actividad PARP1 por métodos farmacológicos o moleculares atenúa el desarrollo de placa aterosclerótica y aumenta la estabilidad de la placa, así como promueve la regresión de las placas ateroscleróticas preestablecida. La inhibición PARP1 reduce significativamente la diferenciación de monocitos, reclutamiento de macrófagos, Sirtuinas 1 (SIRT1) inactivación, la disfunción endotelial, formación de neointima, espuma de muerte celular, y las respuestas inflamatorias dentro de las placas, todos los cuales son fundamentales para la patogénesis de la aterosclerosis. Existe alto potencial terapéutico de la inhibición PARP1 para prevenir o revertir la aterosclerosis y sus secuelas clínicas cardiovasculares (Xu et al., 2013).

3.3.7. Otras funciones.

PARP1 ha sido también implicado en señales de transducción proinflamatorias, procesos neurotraumatológicos, ictus, artritis, esclerosis múltiple, inflamación, inflamación sistémica y shock circulatorio, inhibidor de angiogénesis, diabetes, cáncer, óxido nítrico, remodelado vascular, daños en reperfusión ocular, renal y de músculo esquelético (Virág, 2012).

También los beneficios de su inhibición se implican en varios procesos como en el tratamiento adyuvante en varias formas de cáncer y su potencial terapéutico y efectos retrovirales (Szabó, 2007)..

3.4. INTRODUCCIÓN NOGO-A

Inicialmente descubierto como un inhibidor potente de crecimiento de neuritas en el sistema nervioso central y responsable de la inhibición de su regeneración. Nogo-A (el mayor miembro de la familia Nogo también conocido como Reticulon-4) se ha convertido en una proteína multifuncional. La participación de esta proteína ha sido demostrada en numerosos procesos de desarrollo, que van desde la migración celular, guía de axones y fasciculaciones, ramificaciones dendríticas, plasticidad del SNC, diferenciación de oligodendrocitos y la mielinización (Pfeffer & Braunwald, 1990). Su actuación en la plasticidad sináptica es negativamente en la creación y la transmisión de éstas (Anversa et al., 1998).

Aunque inicialmente necesaria y beneficiosa para dar forma y posteriormente mantener la estructura y la funcionalidad del SNC. El incremento de Nogo-A puede restringir propiedades y tener efectos negativos sobre la lesión del sistema nervioso o la enfermedad; estando implicado en una amplia gama de trastornos del SNC (enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, esquizofrenia) incluyendo traumas (como lesión de la médula espinal o accidente cerebrovascular (Pfeffer & Braunwald, 1990). Su activación ha demostrado la aparición de fenotipos conductuales similares a la esquizofrenia significativos en ratas KO (Sarkey et al., 2012).

El receptor Nogo-66 (NgR), una proteína de membrana que se une a Nogo, puede desempeñar un papel importante en la transducción de señales para varios inhibidores asociados a la mielina (Anversa et al., 1998).

El daño axonal conduce a déficits permanentes en el sistema nervioso central adulto no sólo debido a la débil capacidad intrínseca de las neuronas adultas para activar su programa de regeneración, sino también debido a la presencia de inhibidores de crecimiento específicos en el tejido del SNC y el medio ambiente de los axones dañados.

Estudios recientes han demostrado que Nogo-A al actuar de una manera negativa sobre el citoesqueleto y en el programa de crecimiento de las neuronas axotomizadas, ejerciendo efectos inhibitorios rápidos y crónicos en el crecimiento de neuritas. Por otro lado, el bloqueo de los resultados de Nogo-A produce una mejora compensatoria y la

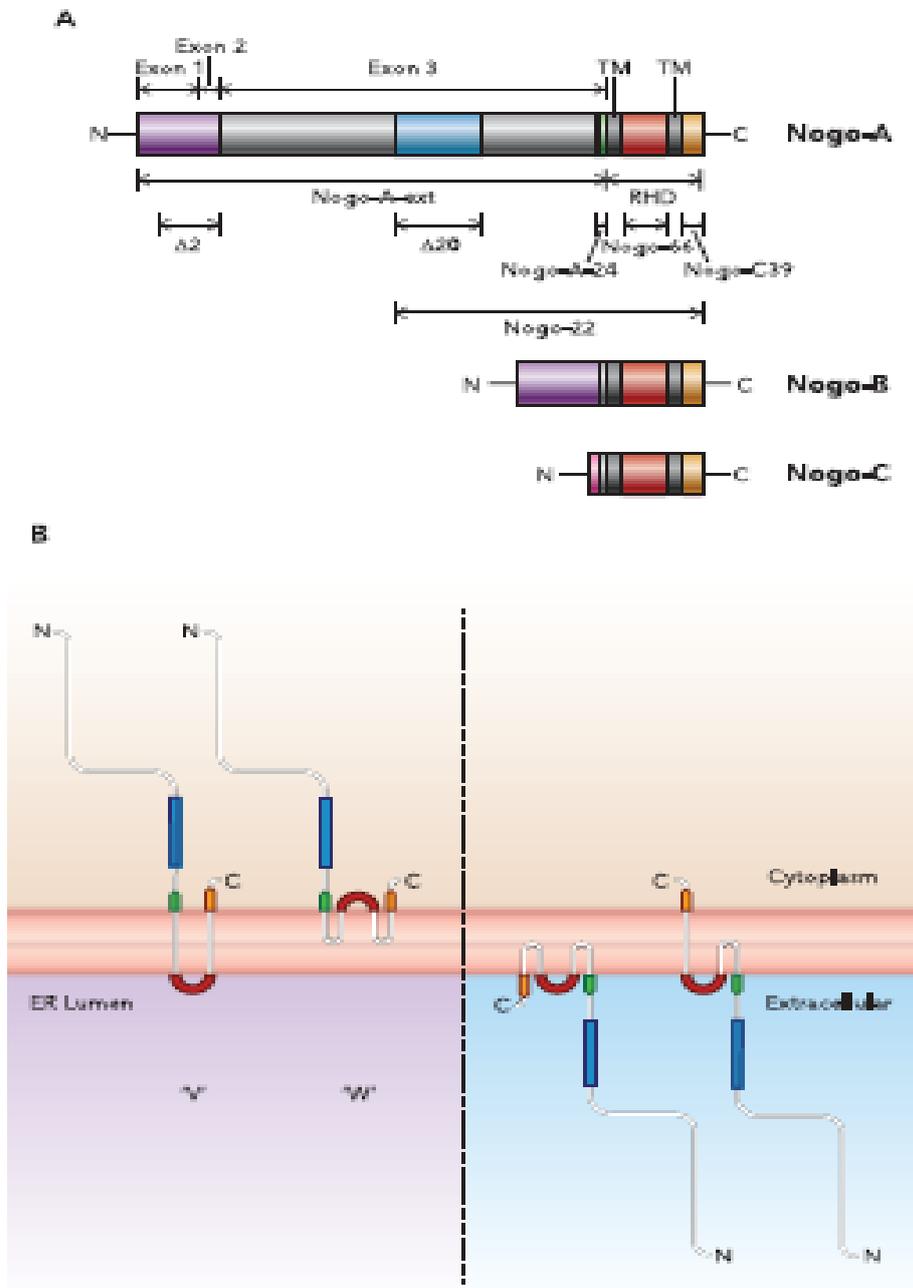
extensión axonal regenerativa in vivo; esta mejora es a menudo paralela a la recuperación funcional significativa (por ejemplo, de la locomoción después de derrame cerebral, lesiones de la médula en ratas y monos).

- **Estructura.**

Cuatro genes de mamíferos (reticulon RTN1, RTN2, RTN3, RTN4) dan lugar a una amplia gama de diferentes variantes de empalme que forma la familia RTN de las proteínas (Oertle & Schwab, 2003a). Las isoformas de la proteína Nogo-A, Nogo-B y Nogo-C están codificadas por el gen RTN4/Nogo, mediante corte y empalme alternativo o diferente uso de promotor (Zamzami et al., 1996; GrandPre et al., 2000; Prinjha et al., 2000) (Figura 13 A). Todos los miembros comparten una homología RTN reticulon dominio COOH-terminal (RHD) de de 180-200 AA, que consta de dos regiones hidrófobas ancladas a la membrana, atravesado por un región hidrófila de 60 a 70 - AA- larga, también llamada Nogo- 66 en Nogo-A, y seguido por un término corto COOH (Oertle & Schwab, 2003a) (Figura 13 A). En contraste con la RHD altamente conservada, poca o ninguna homología se puede encontrar entre las regiones NH2 - terminales de RTN u otras proteínas (Oertle & Schwab, 2003a), lo que sugiere que varias isoformas RTN pueden interactuar con diferentes proteínas y por lo tanto ejercer una amplia gama de funciones.

En el SNC adulto, Nogo-A se expresa predominantemente en los oligodendrocitos formadoras de mielina pero también se encuentra en las neuronas de regiones altamente plásticas del SNC tales como el hipocampo o la corteza (Ngoh et al., 2009). En el SNC en desarrollo, Nogo-A se expresa transitoriamente por diferentes poblaciones neuronales, en particular las neuronas de proyección (Ngoh et al., 2009). Al igual que otros miembros de la familia RTN, Nogo-A se localiza predominantemente en el retículo endoplasmático (RE) con pequeñas cantidades (<10%) pero funcionalmente significativas, encontradas en la superficie celular de los oligodendrocitos, neuronas, y algunos tipos de células no neuronal (Dodd et al., 2005; Oertle et al., 2003b).

Figura 13 . Estructura membrana y topología de proteína RTN4/Nogo-A: Estructura esquemática de isoformas proteicas de Nogo; Nogo-A, Nogo-B y Nogo-C.



Modificado de Kempf & Schwab, 2013.

Intracelularmente, Nogo-A tiene una fuerte preferencia para localizarse en el RE tubular que es requerido para la formación y el mantenimiento de los túbulos ER in vitro. A diferencia de otras proteínas del RE o proteínas transmembrana, entregadas a la membrana plasmática a través de la ruta de transporte RR/Golgi clásico, Nogo-A carece

de un péptido señal para su translocación a la membrana ER (Oertle et al., 2003b). A pesar de un motivo de retención de ER dilisina COOH-terminal, varios estudios han demostrado que los dominios transmembrana de RTN son responsables de su correcta localización ER (Long et al., 1997; Oertle et al., 2003c; Shibata et al., 2008; Sparkes et al., 2010; Tolley et al., 2010).

- **Membrana, topología y tráfico de Nogo-A.**

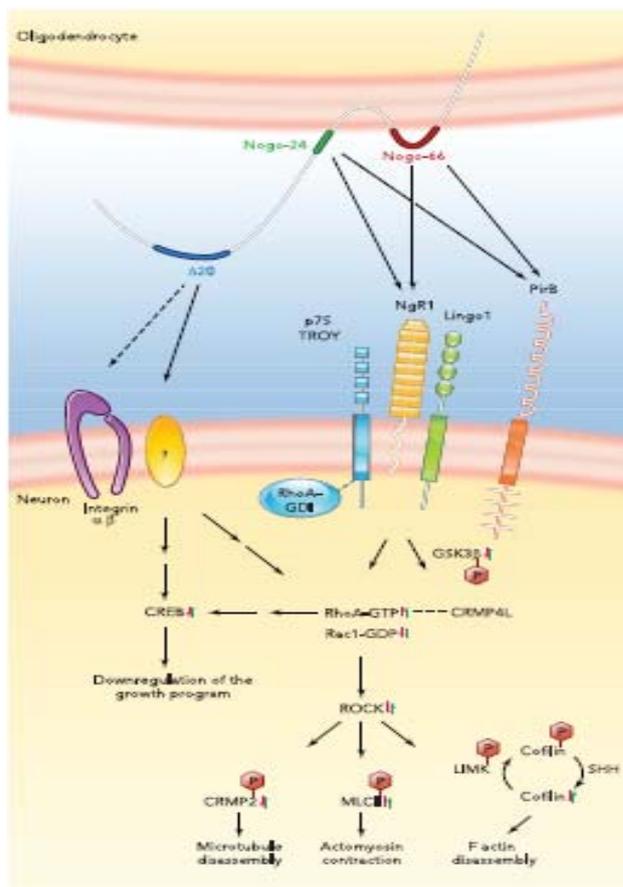
Dadas sus segmentos hidrófobos inusualmente largos (~ 35 AA), proteínas RTN se han sugerido para adoptar una topología de horquilla diferente de proteínas transmembrana clásicos. En la membrana del RE, tanto el NH₂ y COOH terminal están situados en el lado citosólico (Figura 1B), que recuerda a las proteínas de la caveolina - (Tanaka et al., 1994; Long et al., 1997; Kim et al., 2006; Oertle et al., 2003b; Sparkes et al., 2010). En línea con esto, RTN se han propuesto para representar una nueva conformación de clase de proteínas de la membrana, que generan a través de una membrana de curvatura local de la oligomerización, varios bucles en horquilla insertados en una valva de la membrana (Tanaka et al., 1994; Sparkes et al., 2010). La localización del bucle Nogo-66 puede diferir entre diferentes isoformas de Nogo, resultando en una "V" o configuración "W" de la proteína, en el que cada segmento hidrófobo abarca totalmente la membrana o adopta una estructura de horquilla.

Nogo-A se encuentra en una topología diferente en la membrana plasmática, en la que el terminal NH₂ y la cara bucle de Nogo-66 el espacio extracelular y por lo tanto permiten un acoplamiento funcional con varias parejas de interacción en trans (GrandPre et al., 2000; Oertle et al., 2003b; Schwab, 2010; Zander et al., 2010) (Figura 13B). Topologías alternativas que permiten la expresión de múltiples funciones biológicas en diferentes compartimentos celulares se han descrito para una serie de otras proteínas incluyendo las proteínas RE residente tales como el receptor de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3R) o el receptor de Nogo-B recientemente caracterizado (NgBR) (Harrison et al., 2009; Harrison et al., 2011; Levy 1986; Miao et al., 2006; Taylor & delli, 2006). Al ser una proteína de membrana no convencional NH₂-terminal de Nogo-A es un fuerte organizador topológico, no está claro cómo Nogo-A adopta sus diferentes topologías (Long et al., 2007).

- Receptores

Dos receptores de alta afinidad de interacción, socios/receptores se han caracterizado por el dominio Nogo-66, mientras que los jugadores moleculares que interactúan con Nogo-A- Δ 20 aún no se conocen. Nogo-66 interactúa con el receptor de Nogo-66 1 (NgR1) (Fournier et al., 2001) y también con el receptor B emparejado similar a una inmunoglobulina (PirB) (Atwal et al, 2008) (Figura 14).

Figure 14.



Modificado de Kempf & Schwab, 2013.

- Vías de señalización intracelular.

Tanto Nogo-66 y Nogo-A- Δ 20 desencadenan la activación de la pequeña GTPasa RhoA y de su asociada a Rho efector, espiral de la bobina que contiene la proteína quinasa

(ROCK), lo que resulta en una desestabilización de la maquinaria de crecimiento (Nash et al., 2009; Miao et al., 2006) (Figura 14).

Rho GTPasas, incluyendo RhoA, Rac1 y Cdc42, integran las señales direccionales de sentido superior y sentido inferior para desencadenar reordenamientos del citoesqueleto, por ejemplo, la polimerización de actina para el crecimiento y la protrusión de lamelli- y filopodios en los conos de crecimiento y erizando membranas (Rac1, Cdc42), o despolimerización y actomiosina la contracción de la retracción (RhoA) (Lowery & Van Vactor, 2009; Schmandke & Strittmatter, 2007). En línea con esto, Nogo-66 y Nogo-A- Δ 20 no sólo activan RhoA sino que también disminuyen la actividad de Rac1 (Deng et al., 2010; Niederost et al., 2002). Bloqueo farmacológico o formas dominantes negativos de RhoA y ROCA impiden sustancialmente Nogo-A y la inhibición de la mielina mediada por el crecimiento in vitro (Olivetti et al., 1996; Dergham et al., 2002; Niederost et al., 2002). In vivo, la aplicación del bloqueador ROCA Y-27632 de fibra estimula la germinación y la regeneración después de la médula espinal o lesión del nervio óptico pero también acelera la recuperación funcional del motor en diferentes modelos de lesión de la médula espinal (Ferrari et al., 1992; Dergham et al., 2002).

Otros componentes de señalización de Nogo-A incluyen la proteína quinasa C (PKC) y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

El tratamiento agudo con anticuerpos neutralizantes con Nogo-A demostró aumentar la germinación regenerativa y el crecimiento de zonas lesionadas, así como axones en diferentes modelos de accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (Bullard et al., 2008). Resultados anatómicos comparables, así como una mejor recuperación de las funciones perdidas también se obtienen mediante el bloqueo NgR1 (Gramolini et al., 2008) y la proteína de LINGO-1 asociada a NgR1. Sin embargo, se encontraron diferencias con respecto al grado de la regeneración axonal después de una lesión de la médula espinal generada independientemente en Nogo-A, Nogo-A/B, y Nogo-A/B/C dirigido o ratones mutantes trampa de genes (Kim et al., 2003).

- **Plasticidad estructural y crecimiento de las fibras en el SNC adulto.**

Nogo-A restringe la plasticidad neuronal en el SNC adulto intacto. La observación de neutralización de Nogo-A da como consecuencia un marcado aumento de brotes compensatorios regenerativos después de la lesión del SNC plantearon la cuestión de si

Nogo-A también limita la plasticidad en el SNC intacto. La inactivación de Nogo-A en cultivos de cortes de hipocampo organotípicos maduros también condujo a un aumento en el crecimiento y la complejidad de los axones y dendritas piramidales (Craveiro et al., 2008). A nivel molecular, estos cambios estructurales van acompañados de una regulación por incremento concomitante de marcadores asociados al crecimiento y factores de transcripción, lo que sugiere que Nogo-A puede suprimir activamente la plasticidad anatómica en el SNC adulto por una regulación a la baja tónica de la expresión génica asociada al crecimiento (Lee & Gustafsson, 2009; Craveiro et al., 2008). Apuntan a una marcada regulación de la maquinaria del crecimiento como citoesqueleto y de factores de transcripción asociados al crecimiento hacia un mayor crecimiento (Craveiro et al., 2008; Oertle, 2003c). Inhibición del crecimiento tónico podría resultar de señales inhibitorias transportadas retrógradamente desde los axones a los cuerpos celulares.

La inactivación de Nogo-A alrededor de los axones mielinizados maduros sería dar lugar a una desinhibición del programa de crecimiento inhibido (Schwab, 2010), mediante la señalización de los endosomas a los cuerpos celulares neuronales donde regula a la baja cAMP.

- **Nogo-A en cardiomiocitos.**

La expresión de Nogo-A fuera del tejido nervioso es bastante desconocida. En relación con los miocitos cardíacos se ha demostrado tras isquemia miocárdica, estrés biomecánico sobre el miocardio restante, lo que lleva a la disfunción miocárdica que puede resultar en insuficiencia cardíaca congestiva o muerte súbita (Anversa et al., 1998; Pfeffer & Braunwald, 1990; Sarkey et al., 2011).

La expresión de Nogo-A ha demostrado ser significativamente mayor en el tejido cardíaco de los pacientes con miocardiopatía dilatada y de los pacientes que han sufrido un evento isquémico tanto en cultivos celulares de cardiomiocitos como en tejidos humanos y ha sido localizada predominantemente en el retículo endoplasmático (Sarkey et al., 2011; Ortega et al., 2014). La expresión ha aumentado significativamente en los cardiomiocitos de rata neonatal en cultivo sometidos a hipoxia/reoxigenación (Sarkey et al., 2011).

En un miocardio infartado tras la reperfusión, mientras que la pérdida inicial de cardiomiocitos es principalmente debido a la necrosis en la zona infartada, la apoptosis desempeña un papel clave en el daño de tejido circundante y distante (Olivetti et al., 1996; Gottlieb et al., 1994; Hofstra et al., 2000; Saraste et al., 1997). La apoptosis subsiguiente después de I/R puede estar mediada por la activación de la vía del receptor de muerte (vía extrínseca), la vía de las mitocondrias-dependiente (vía intrínseca), o retículo endoplasmático (RE) (Lee & Gustafsson, 2009; Thuerauf et al., 2006). Mientras que la apoptosis mediada por el receptor de la muerte y RE estrés se sabe que juegan un papel en la lesión H/R, la vía dependiente de mitocondrias sirve como el sitio de integración crítico para un número de señales pro-apoptóticas en el cardiomiocito (Kroemer et al., 2007). Tras la repentina disponibilidad de oxígeno durante la reperfusión, hay un estallido de radicales libres del oxígeno (RLO), el aumento de la transición de permeabilidad mitocondrial, disminución de potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) y la liberación de citoquinas pro-apoptóticas factores, tales como el citocromo c, en última instancia conduce a la activación de la caspasa-3 y la apoptosis (Ferrari et al., 1992, Zamzami et al., 1996; Danial et al., 2004; Tsujimoto et al., 2006).

Nogo-A se ha propuesto como un indicador potencial de la insuficiencia cardíaca debido a su elevada expresión en modelos genéticos cardiomiopatía de dilatada (DCM) y su incremento en la expresión de ARNm en la insuficiencia cardíaca terminal en los seres humanos (Bullard et al., 2008; Gramolini et al., 2008).

Nogo-A se expresa en cardiomiocitos. Mientras la expresión de Nogo-A en el corazón ha sido demostrada previamente, no está claro qué tipos de células son responsables de su expresión. Cardiomiocitos neonatales y adultos eran positivos para inmunotinción de Nogo-A. Comparación entre los miocitos y fibroblastos obtenidos a partir de la misma fuente de tejido revelaron que los fibroblastos contribuyen relativamente poco a la expresión de Nogo-A, mientras que los miocitos exhiben sólida expresión en cultivos. La expresión esta aumentada tras hipoxia/reperfusión en cultivos. La desactivación de Nogo-A Está bien establecido que someter cardiomiocitos cultivados a H/R induce la muerte celular a través de apoptosis (Tanaka et al., 1994; Long et al., 1997), el sello distintivo de los cuales es la aparición de fragmentación de ADN. Existe relación entre el bloqueo de Nogo-A y el de la inhibición de la fragmentación DNA en cultivos (Sarkey et al., 2011).

RE Estrés se ha demostrado que se producen en el infarto de miocardio (Ortega et al., 2014), así como en cultivos cardiomiocitos sometidos a isquemia/reperfusión, y se sabe que juega un papel en la apoptosis inducida H/R (Thuerauf et al., 2006; Ngoh et al., 2009; Szegezd et al., 2006). Nogo-A es altamente expresado en el RE y modula la inducción de la respuesta al estrés ER inducida H/R.

En las células sometidas a la apoptosis temprana, la fosfatidilserina (PS) se transloca desde el superficie intracitoplasmática de la membrana plasmática a la superficie extracelular (van Engeland et al., 1998). La desactivación de Nogo-A inhibe la traslocación de la fosfatidilserina (Sarkey et al., 2011).

La desactivación de Nogo-A protege a cardiomiocitos contra la apoptosis futuras inducida por I/R. Fue confirmado mediante una serie de enfoques para medir las características de la muerte celular por apoptosis. Bloqueos de Nogo-A inducida I/R inhibió la fragmentación, DNA, la translocación PS no necrótico, caspasa-3 escisión y la liberación del citocromo c (Sarkey et al., 2011).

3.5. ESTRÉS CELULAR

3.5.1.-Consideraciones generales.

Los productos reactivos del oxígeno (PRO) incluyen iones de oxígeno, tanto radicales libres como peróxidos. Son moléculas pequeñas altamente reactivas con electrones no apareados. Estos pueden ser tanto inorgánicos como orgánicos y en condiciones normales ser subproducto del metabolismo normal del oxígeno desempeñando un papel en la señalización celular. Pero en condiciones ambientales adversas también son consecuencia de un desequilibrio de prooxidantes y antioxidantes que conducen a daño estructural celular y lesión tisular. En condiciones normales a nivel intracelular las células se defiende mediante el uso de enzimas como catalasas o la superóxido dismutasa, además de otras pequeñas moléculas como: el ácido ascórbico, el glutatión, ácido úrico, etc. La capacidad a nivel extracelular es muy baja siendo la principal molécula el ácido úrico.

Un estrés oxidativo alto es común en los órganos y tejidos con grandes demandas metabólicas y de energía, incluyendo el músculo cardíaco. El agotamiento de los sistemas antioxidantes es una de las razones para la aparición de este estrés oxidativo, resultando en la producción de radicales libres.

Hay cuatro grupos principales de factores de estrés: físicos, químicos, biológicos y psicológicos (Puppel, 2015). Dentro del estrés físico incluyen fluctuaciones en la temperatura ambiente, así como las lesiones mecánicas. Estresores biológicos están condicionadas por errores e irregularidades en los hábitos. Los efectos nocivos de estos radicales se realizan sobre el DNA, la oxidación de los AA de las proteínas y ácidos grasos polinsaturados.

3.5.2.-Radicales libres del oxígeno (RLO).

Una molécula normal consiste en un par de electrones opuestos en giro (spin) y circulando en una misma órbita.

El radical libre (RL) contiene un número impar de electrones. Si dos RL reaccionan entre sí ambos son eliminados, pero si reacciona con una molécula normal se produce un nuevo radical.

Los RLO son metabolitos tóxicos que presentan estados intermedios de reducción electroquímica del O_2 al agua (McCord, 1985; Bulkley, 1983). Por ello, participan en múltiples reacciones ya que pueden servir como oxidantes y como reductores (Figura 15).

Figura 15. Radicales libres de oxígeno

SUPERÓXIDO	$O_2 + e^-$	$O_2^{\cdot -}$
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -}$	$H_2O_2 + O_2$
RADICAL HIDRÓXILO	H_2O	$H^+ + OH^{\cdot}$
OXÍGENO SINGLETE	$O_2^+ + H_2O_2$	$^1O_2 + OH^+ + OH$

Los RLO se producen durante la fase de reperusión, por lo que la entrada de O_2 en el tejido es más nociva que la producida por la propia isquemia (Haglund & Lundgren, 1978).

El organismo normalmente elimina el 95% del O_2 transformándolo en agua, en una reacción catalizada por la citocromo oxidasa mitocondrial. No obstante, un 5% del O_2 se elimina a través de la denominada reducción univalente del O_2 , es decir, el O_2 pierde un electrón cada vez, dando lugar a los denominados RLO.

Durante la hipoxia, por la falta de O_2 , un gran número de enzimas mitocondriales, como la citocromo oxidasa y la manganeso superóxido dismutasa (SOD), entre otras, disminuyen su actividad. Estas enzimas son captadoras de aniones por lo que su descenso provoca el aumento intracelular en RLO. El exceso de RLO provoca daño celular por incrementar la peroxidación de lípidos, entre otros mecanismos. Una fuente adicional de RLO dentro de la célula, procede de la actividad de enzimas como la Xantina-O, la ferrihemoglobina y la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADP). Estas enzimas aumentan su actividad oxidasa durante la I/R actuando como donadoras de electrones y principales fuentes de producción intracelular de RLO, fundamentalmente O_2 y H_2O_2 .

3.5.3.- Síndrome de isquemia/reperfusión (I/R)

3.5.3.1. Generalidades

En la mayoría de los órganos, la isquemia transitoria o definitiva es la mayor causa de daño tisular. Aunque la isquemia por sí misma puede inducir un daño importante, se sabe que las lesiones van a producirse durante el período de reperfusión. Este se define como el proceso que sufre un órgano sometido temporalmente a la falta de flujo sanguíneo y que posteriormente es reperfundido con sangre oxigenada.

El resultado de este proceso es una agresión tisular secundaria a la anoxia, a la privación de metabólicos y al acumulo de sustancias de desecho del metabolismo que acentúa el daño tisular y la disfunción de órganos que conduce a la muerte celular (Downey, 1990).

En los donantes a corazón parado (donantes en asistolia) la lesión por I/R es más importante, dado que se añade un tiempo de isquemia caliente, más o menos prolongado, a la habitual isquemia fría, de manera que existe un mayor riesgo para la viabilidad del injerto a corto y largo plazo.

La isquemia produce *per se* daño celular y se continúa con un posterior deterioro debido a la reperfusión. Por tanto, la entrada de sangre oxigenada puede ser más perjudicial para el órgano que la falta de la misma.

3.5.3.2.- Fase Isquémica

La privación de O₂ y nutrientes *in vivo* produce a nivel celular una serie de alteraciones en el metabolismo y la estructura celulares. Un estrés oxidativo alto es común en los órganos y tejidos con grandes demandas metabólicas y de energía, incluyendo el músculo del corazón como consecuencia del agotamiento del ATP (Carden, 2000; Kloner, 1974)

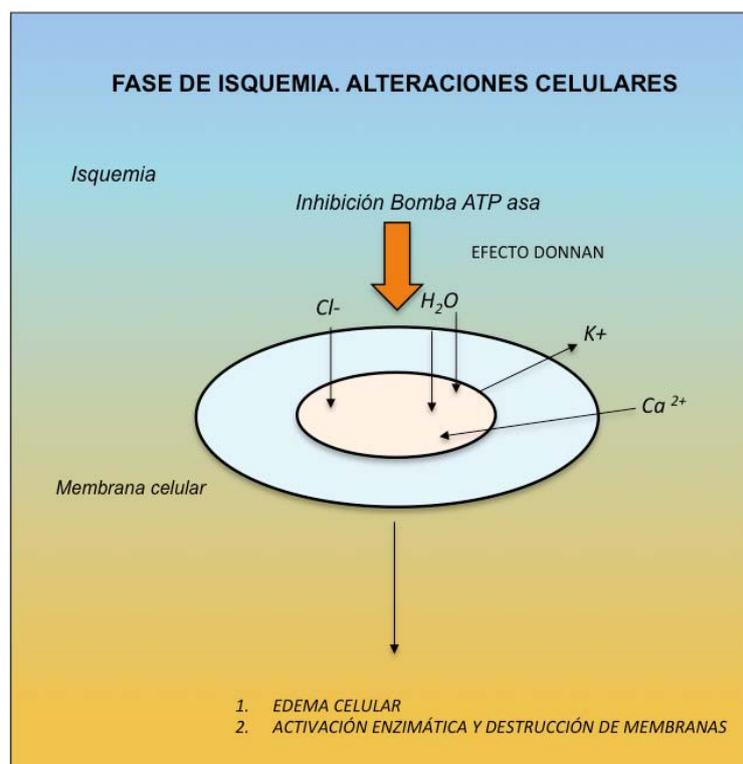
Varios mecanismos han sido propuestos para explicar el daño tisular que ocurre en el tejido post-isquémico.

El primer mecanismo, el de la depleción de adenosintrifosfato (ATP), propone que la isquemia conduce a una rápida depleción de ATP celular, con la consecuente pérdida de los sistemas de transporte activo de ATP y, subsecuentemente, fallo en el

mantenimiento de los gradientes iónicos, llevando a un daño celular irreversible, sobre todo a nivel mitocondrial.

Un segundo mecanismo que ha sido propuesto para explicar el daño tras la I/R, es la afluencia primaria de calcio (Ca^{2+}) dentro de la célula durante la reperfusión (Figura 16). Todo ello, a su vez, conlleva alteraciones en el citoesqueleto y modificaciones en proteínas de uniones intercelulares y a la membrana basal, entre otras (Ratych & Bulkley, 1986; Devarajan, 2005).

Figura 16. Alteraciones celulares en la isquemia.

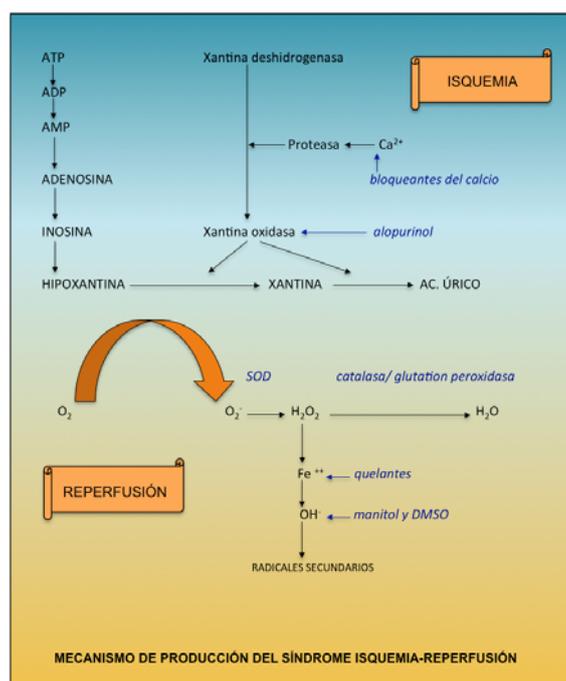


3.5.3.3. Niveles de Adenosintrifosfato (ATP)

EL ATP es generado en las mitocondrias por fosforilación oxidativa, y libera la energía hidrolizándose a adenosindifosfato (ADP) cuando es necesario. En situaciones de privación de O_2 , se produce la inhibición de la fosforilación oxidativa a nivel mitocondrial, con escasa formación de ATP, quedando paralizadas todas las funciones celulares que requieran energía, y se estimula la glicólisis anaerobia formándose ácido láctico e hidrogeniones, dando lugar a la acidosis intracelular. Esto provoca la activación de los enzimas de los lisosomas conduciendo a la autólisis y muerte celular.

En 1981 Granger y colaboradores propusieron, por primera vez, un mecanismo molecular para explicar la producción de lesiones en el síndrome de I/R (citado por Molitoris, 2004). Durante el periodo de isquemia se produce consumo de ATP por parte de las células para mantener la homeostasis (Figura 17). El ATP es catabolizado a ADP y a adenosinmonofosfato (AMP). El AMP, a su vez, se cataboliza a hipoxantina, con el consiguiente acúmulo de esta última. La carga energética de las células cae y éstas no son capaces de mantener el gradiente iónico entre sus membranas, redistribuyéndose el Ca^{2+} hacia el interior de la célula y aumentando la concentración del mismo en el espacio intracelular. Los acúmulos de enzima xantina-oxidasa y de sus sustratos: hipoxantina y xantina, durante el período de isquemia, parecen ser los acontecimientos necesarios para producir la lesión en las células durante la posterior re-oxigenación, puesto que llegará el O_2 necesario para la enzima con la consecuente producción de radicales libres del oxígeno (RLO).

Figura 17. Mecanismo de producción del síndrome de I/R.



Síndrome de isquemia/reperfusión. Los nucleótidos de alta energía se hidrolizan progresivamente durante el periodo de isquemia, con la consecuente acumulación de hipoxantina. Además, existe una rápida conversión de xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa. En consecuencia, tanto ésta como la hipoxantina están presentes en exceso. Durante la reperfusión se produce la entrada masiva de O_2 , a partir del cual se producen los RLO, que son los que provocaran la lesión del tejido. Se muestran asimismo (en azul y cursiva) las sustancias capaces de proteger frente a esta lesión (Modificado de Granger, Rutili & McCord, 1981).

3.5.3.4. Calcio intracelular

El Ca^{2+} citoplasmático es un importante segundo mensajero, capaz de activar muchas rutas de señalización intracelular, como las mediadas por la proteína quinasa C.

La privación de O_2 produce un aumento del Ca^{2+} citosólico por movilización hacia el citoplasma del contenido en el retículo endoplásmico e incluso por captación de Ca^{2+} extracelular. La elevación en la concentración de Ca^{2+} intracitoplasmático se ha identificado como marcador de daño en la mayoría de las respuestas celulares a injurias agudas, como por ejemplo la isquemia y/o la hipoxia. Así, el aumento de Ca^{2+} intracitoplasmático es una situación mediadora de muchas patologías de etiología isquémica (Vanderklish & Bahr, 2000).

En el caso de patologías de origen hipóxico, el aumento de Ca^{2+} intracitoplasmático induce fosforilación de fosfolipasa A2, a través de sus formas calcio-dependientes (Kribben et al., 1994). Estas fosfolipasas activadas alteran la permeabilidad y actividad de las membranas e incrementan los niveles de ácidos grasos libres que actúan como detergentes de la membrana.

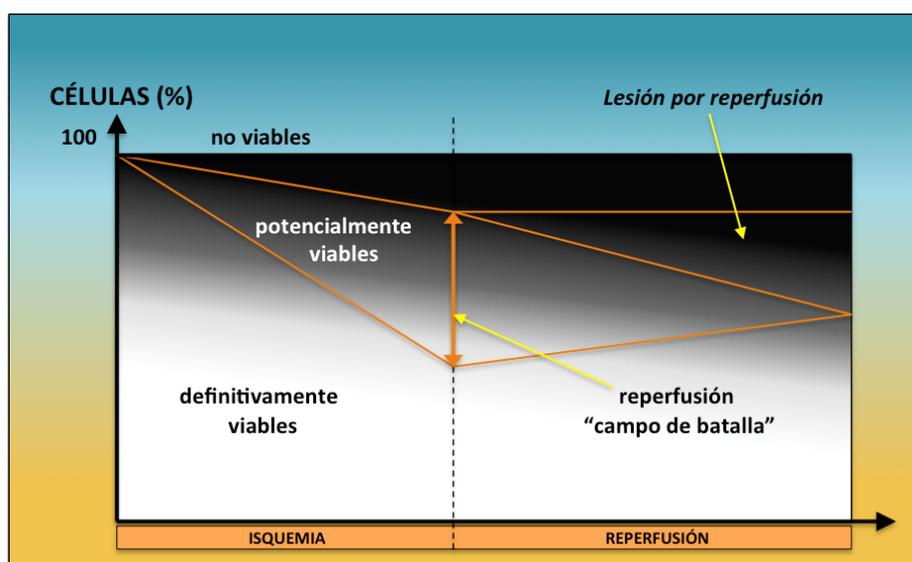
Durante la isquemia y los primeros momentos de reperfusión se produce una situación de acidosis merced al acúmulo de protones de hidrógeno (H^+). El aumento de estos H^+ intracelularmente estimula el intercambiador Na^+/H^+ que elimina H^+ de la célula introduciendo sodio (Na^+). Esto implica un aumento de la concentración intracelular de Na^+ que la célula intenta balancear mediante la activación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, que se localiza tanto en la membrana citoplasmática como en la membrana mitocondrial, y que retira el Na^+ a cambio de internalizar Ca^{2+} , resultando finalmente en una elevación de la concentración de Ca^{2+} intracitoplasmático. Varios estudios han demostrado una progresiva acumulación mitocondrial de Ca^{2+} , con una disfunción respiratoria celular asociada. La entrada de Ca^{2+} a la célula se ha asociado con una activación de las ATPasas estimuladas por Ca^{2+} , lo cual deprime aún más los depósitos de por sí ya reducidos de ATP.

3.5.3.5. Fase de repercusión Isquémica

Durante el periodo de isquemia una gran fracción de células sufrirá cambios bioquímicos y patológicos asociados con la anoxia, pero permanecerán “potencialmente

viables”. Una pequeña fracción estará “irreversiblemente dañada” y al final de la isquemia se necrosará. Al momento de la reperfusión y de la readmisión de O₂ el grupo de células “potencialmente viables” puede revertir los cambios de la isquemia y recuperar su función normal, o avanzar más tarde hacia la necrosis. Estas células “potencialmente viables” son, por lo tanto, el “campo de batalla” en el periodo de reperfusión (Figura 18). Después de la reperfusión es difícil saber si las células dañadas eran realmente parte del grupo de células potencialmente viables (Maxwell & Lip, 1997).

Figura 18. Lesión por reperfusión.

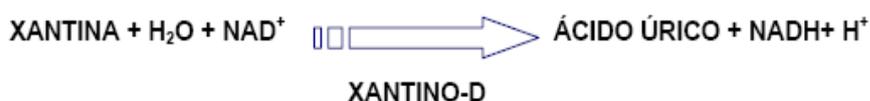


Durante el periodo de isquemia algunas células sufrirán cambios bioquímicos y patológicos asociados con la anoxia pero permanecen potencialmente viables. Otras serán no viables, estando irreversiblemente dañadas por la isquemia y finalmente se necrosarán. Durante la reperfusión, las células potencialmente viables pueden revertir los cambios de la isquemia y recuperar su función normal o continuar hacia la necrosis. Estas células potencialmente viables constituyen el “campo de batalla” en el periodo de reperfusión. En una reperfusión óptima todas estas células serían salvadas. Esta situación ideal no se alcanza fácilmente y muchas células serán perdidas (lesión de la reperfusión). En la clínica es difícil demostrar si alguna de las células que finalmente se necrosaron eran realmente “potencialmente viables”. Este concepto sólo puede ser establecido si una intervención puede, sin lugar a dudas, demostrar que mejora los resultados tras la reperfusión (Modificado de Maxwell & Lip, 1997).

3.5.3.1. Reentrada masiva de oxígeno al tejido

Cuando el flujo sanguíneo se reinstaura, se produce una reentrada masiva de O_2 a las células. Este puede producir más daño que la propia isquemia. Esto se debe a un desequilibrio entre la tasa de generación de RLO y la capacidad del tejido para desintoxicar estos Radicales Libres (Guarnieri, 1980; Granger, 1981). El exceso de RLO provoca daño celular por incrementar la peroxidación de lípidos, entre otros mecanismos.

El exceso de Ca^{2+} intracitoplasmático activa la enzima proteasa que cataliza el paso de Xantina-D (deshidrogenasa) a Xantina-O (oxidasa) en presencia de NADPH - Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido- (Nauta et al., 1991; Mc Cord, 1983; Granger, 1988). Batelli y colaboradores ya en 1972 demostraron que la tasa de conversión es órgano-dependiente, ocurriendo en 1 minuto en el intestino de la rata isquémica y en 30 minutos en el riñón isquémico del animal. La Xantina-O es la mayor fuente biológica de producción de superóxidos en tejidos postisquémicos (Parks & Granger, 1983), siendo la primera fuente documentada de producción de dicho radical. En tejidos no isquémicos, la Xantina-D es la mayor enzima responsable de la degradación de la purina. La Xantina-D no puede transferir electrones al O_2 molecular para formar peróxido de hidrógeno o superóxido (O_2^-), pero puede reducir el NAD^+ (Nicotinamida adenina dinucleótido).



En condiciones de baja concentración de O_2 , como ocurre en la fase de isquemia, se transforma la Xantino-D en Xantino-O, esta última utiliza el O_2 molecular en lugar del NAD^+ produciendo superóxido y peróxido de hidrógeno (H_2O_2):



De esta forma se han sintetizado los radicales libres del oxígeno.

TABLA 6. Fuentes de radicales libres del oxígeno.

Xantina oxidasa	Intestino, pulmón, corazón, piel, ojos, cerebro, músculo esquelético, hígado, páncreas, estómago, testículo, riñón, articulaciones, médula espinal.
NADPH oxidasa	Intestino, pulmón, corazón, ojos, cerebro, estómago, hígado, riñón, testículo.
Mitocondrias	Intestino, pulmón, corazón, cerebro, esqueleto, músculo, hígado, riñón, estómago, testículo, médula espinal.
Óxido Nítrico sintetasa	Hígado, corazón, célula endotelial aórtica.
Citocromo P450	Pulmón, corazón, riñón.
Lipooxigenasa/ciclooxigenasa	Cerebro, ojos, páncreas, estómago.
Monoamino oxidasa	Corazón, riñón, cerebro.

3.5.4.-. EVIDENCIA DE DAÑO POR RADICALES LIBRES

Mientras ciertos rasgos característicos tras la I/R son compartidos por todos los tejidos (edema, necrosis, apoptosis, función vascular deteriorada), otros son específicos del órgano (en el corazón, arritmias, alteraciones transitorias de la contractibilidad cardíaca...) (Braunwald, 1986; Ferdinand, 2007). Otras alteraciones son las siguientes: Alteraciones conductuales cerebrales (Jung, 2010), parálisis medular (Zhu, 2013), disminución de la motilidad intestinal con trasiego bacteriano con endotoxemia (Vollmar, 2011), deficiencia visual y ceguera (Osborne, 2004), disminución de la tasa de filtración glomerular y proteinuria (Snoeijs, 2010), daño testicular y ovárico con infertilidad (Celik, 2014; Ozturk, 2014).

3.5.4.1. Toxicidad directa

La toxicidad directa puede producirse a través de diferentes mecanismos:

- Mediante modificaciones de los ácidos nucleicos y rupturas del ADN (Brawn & Fridovich, 1980).

- Mediante despolimerización de mucopolisacáridos y del ácido hialurónico, así como degradación del colágeno (Matsumura et al., 1966).
- Mediante inactivaciones enzimáticas (Allen et al., 1973), en particular por oxidación de grupos sulfhidrilo, lo cual puede alterar la integridad de las membranas.

3.5.4.2. Toxicidad indirecta

Se manifiesta mediante el proceso de lipo-peroxidación, que constituye la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en los fosfolípidos de las membranas celulares. De ello resulta una reacción en cadena con formación de radicales libres intermedios que son altamente reactivos y, por tanto, extremadamente tóxicos. Esta reacción en cadena finaliza con la formación de aldehídos o por la unión de dos radicales lipídicos, o bien, por la formación de un compuesto cíclico. Los productos más conocidos son los eicosanoides, ácidos grasos de 20 átomos de carbono, que pueden ser de dos tipos: prostanoides (prostaglandinas, tromboxano, prostaciclina) y leucotrienos, que derivan del ácido araquidónico por las vías de la ciclooxigenasa o de la lipooxigenasa. El ácido araquidónico se sintetiza gracias a la acción de la fosfolipasa A2 sobre los fosfolípidos de la membrana celular (Petroni et al., 1980). La riqueza en ácidos grasos insaturados de las membranas celulares e intracelulares sugiere la gravedad de las lesiones de membrana que pueden llevar a la apoptosis (Dormandy, 1983).

La contribución relativa del componente de reperfusión sobre el daño total es, al parecer, dependiente de la duración del período isquémico. En algunos casos la reperfusión puede constituir tanto como las dos terceras partes del total del daño (Ratyck & Bulkley, 1986).

El grado y la extensión del daño isquémico son dependientes de la duración y severidad de la isquemia. En isquemias cortas con fenómenos de apoptosis y necrosis en menor medida. En isquemias prolongadas se observan apoptosis y necrosis como daño primario.

En estudios experimentales in vitro e in vivo hay evidencia de la formación de radicales libres de oxígeno y nitrógeno en las cardiomiocitos y células endoteliales durante el daño por isquemia/reperfusión, en el fallo cardíaco, cardiomiopatías, shock circulatorio,

envejecimiento cardiovascular, complicaciones diabéticas, miocardiopatías hipertróficas, aterosclerosis y remodelación vascular después del daño cardíaco (Bhatnagar et al., 1997; Bowes et al., 1999; 1998a; Griendling et al., 2000; Hayashi et al., 2001).

Formación de peroxinitrito fue evidenciada en plasma de la parte de zona isquémica cardíaca reperfundida (Ferdinandy et al., 2003) mediante oxidación de dihydrodromamina-123 y formación de nitrotirosina (Zingarelli et al., 1997a).

Existe evidencia epidemiológica que demuestra que las personas que tienen uno o más factores de riesgo cardiovasculares (hipertensión, hipercolesterolemia, obesidad, diabetes y tabaquismo...) tiene más probabilidades de experimentar un episodio isquémico. Cada uno de estos factores inducen un bajo grado proinflamatorio y prooxidativo creando un microambiente que hace a los tejidos más vulnerables a la efectos deletéreos de una oxidación secundaria y estrés inflamatorio, tales como I/R (Granger, 2010; 2015).

Es generalmente aceptado que la lesión por reperfusión tiene la potencialidad para poner en peligro la recuperación funcional de los pacientes que experimentar interrupción transitoria de la perfusión de la sangre en un único tejido o múltiples órganos, ya sea como consecuencia de un procedimiento médico o quirúrgico (por ejemplo, el trasplante de órganos).

4. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Justificación.

El IM es la causa más común de muerte súbita. Cuando dicha muerte ocurre en un breve intervalo de tiempo, las lesiones morfológicas pueden ser en ocasiones inexistentes o inespecíficas siendo muy difícil establecer la etiología de la muerte mediante estudios macro y microscópicos convencionales. En la práctica forense se necesitan nuevos marcadores para que interpretados conjuntamente, ayuden al diagnóstico más exacto de la causa de muerte.

Hipótesis.

Los marcadores de estrés y daño celular en fluidos así como los marcadores inmunohistoquímicos de lesión tisular en músculo cardíaco, pueden ser de utilidad diagnóstica para diferenciar entre posibles causas de muerte por isquemia de origen cardíaco, de otras causas de muerte natural o violenta o con sufrimiento cardíaco pero de origen no cardíaco

Nos planteamos las siguientes cuestiones:

- ¿Son de utilidad los marcadores bioquímicos de isquemia, troponinas (cTnI, cTnT) y CKMB en suero y líquido pericárdico para discriminar entre diferentes causas de muerte?
- ¿Están los niveles de peroxidación en fluidos y tejido cardíaco condicionados por la causa de muerte?
- La selección de muestras cardíacas de manera protocolizada de diferentes localizaciones es más informativa que el estudio de las lesiones macroscópicas exclusivamente.
- ¿Es posible determinar la causa de la muerte en estudios *post mortem* en ausencia de datos macroscópicos mediante la ayuda de métodos inmunohistoquímicos determinando marcadores relacionados con el sufrimiento o estrés celular como PARP1 y Nogo-A?
- ¿Son de utilidad práctica los marcadores de isquemia cTnI, cTnT en tejido cardíaco, para diferenciar causas de muerte de origen primario cardíaco frente a otras causas?

Para intentar dar respuesta a las cuestiones planteadas nos hemos establecido los siguientes objetivos:

Objetivos.

General- Evaluar *post mortem* en suero, líquido pericárdico, y cortes histológicos con marcadores específicos de daño cardíaco, comprender las diferencias entre estos grupos de causa de muerte respecto al conjunto de parámetros analizado con la finalidad de establecer su capacidad diagnóstica para conocer la causa de muerte. Con el fin de poder aplicar dichos datos en la práctica forense, en un accidente (laboral o tráfico) que realmente tiene su origen en una causa natural como puede ser un fallo cardíaco súbito, pudiendo ser primero la muerte y después el accidente o viceversa. Es fundamental tener parámetros para determinar la causa versus consecuencia ya que ésta tendrá una trascendencia médico-legal (en relación con seguros de vehículos, laborales, vida, etc...) al determinar las circunstancias del fallecimiento

Para responder a la hipótesis presentadas previamente nos planteamos unos objetivos:

1. Específicos.

Establecer posibles diferencias bioquímicas en suero o líquido pericárdico de niveles enzimático y de peroxidación y en tejido cardíaco de cadáver entre las distintas causas de muerte.

2. Secundarios.

1. Determinar mediante métodos bioquímicos niveles de peroxidación en suero, líquido pericárdico y tejido cardíaco.
2. Realizar estudio morfológico y morfométrico en las muestras cardíacas incluidas en parafina
3. Determinar mediante métodos inmunohistoquímicos niveles de expresión enzimáticos de troponinas en tejido cardíaco.
4. Identificar mediante métodos inmunohistoquímicos la expresión de poli(ADP- ribosa) polimerasa en tejido cardíaco.
5. Identificar mediante métodos inmunohistoquímicos la expresión de Nogo-A en tejido cardíaco.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Obtención y características de la muestra

Para controlar y evitar los efectos autolíticos, los cadáveres fueron refrigerados antes de la realización de la autopsia y se seleccionaron aquellos casos con un intervalo *post mortem* inferior a 24 horas. El periodo medio entre muerte y refrigeración del cadáver fue de 3 horas.

Las muestras que hemos estudiado proceden de dos Centros:

- Obtenidas en las autopsias practicadas en el Instituto de Medicina Legal de Murcia (en su sección de Cartagena)). Consistente en; suero y líquido pericárdico de 92 cadáveres (66 varones y 26 mujeres con edades comprendidas entre 12 y 87 años (edad media de 50.33 ± 18.78) que fueron enviadas conservadas en frío en hielo seco a -40°C y almacenadas en frío a -80°C en el Área de Medicina Legal de la Universidad de Murcia debidamente etiquetadas en alícuotas separadas para cada fluido y donde fueron analizadas. Cada alícuota se marcó con un código numérico correspondiente al cadáver, con los datos relativos al mismo como: edad, sexo, causa de la muerte, tiempo de supervivencia, grado de afectación e intervalo *post mortem* transcurrido hasta la autopsia. Las muestras para estudio bioquímico en el caso de muestras en suero y líquido pericárdico, estas fueron transportadas en las mismas condiciones al laboratorio del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia donde fueron mantenidas congeladas para su conservación a -80°C hasta su análisis.

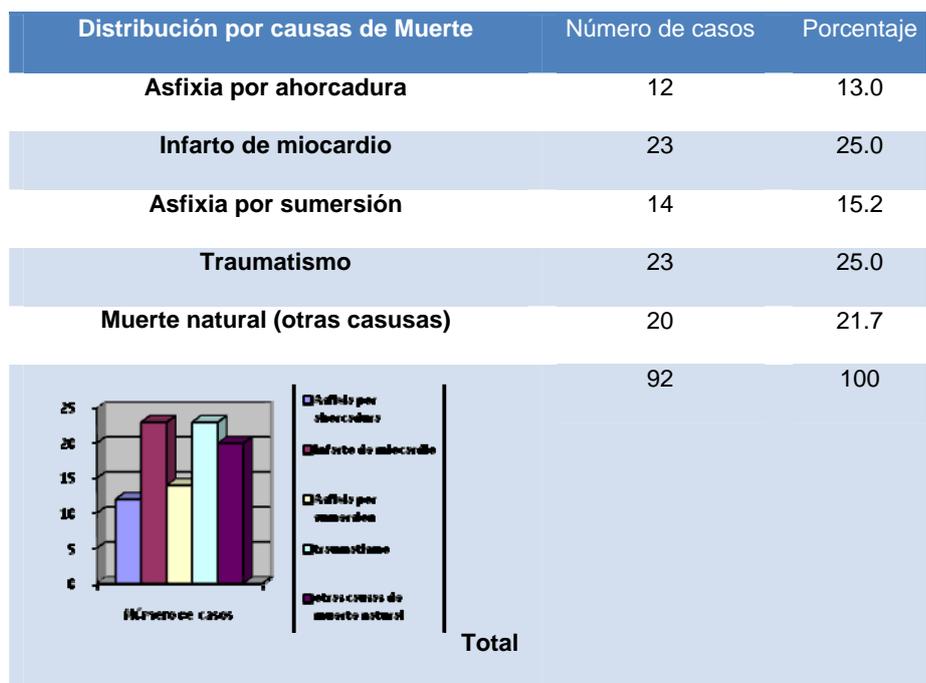
Las muestras de suero y líquido pericárdico fueron procesadas para determinar las isoformas de creatinina quinasa MB, troponina I (cTnI), mioglobina, isoenzima MB de la creatinina quinasa (CK-MB) bien en suero o plasma, y el tejido cardíaco fue también procesado para determinar la peroxidación lipídica.

Los casos se clasificaron en 5 grupos diagnósticos (atendiendo a lo comentado al principio):

- 1º. Sujetos cuya causa de muerte ha sido un proceso asfíctico por ahorcadura (N=12).
- 2º. Sujetos cuya causa de muerte ha sido un proceso asfíctico por sumersión (N=14).

- 3º. Sujetos cuya causa de muerte es exclusivamente cardíaco: Infarto de miocardio (N= 23).
- 4º. Sujetos cuya muerte es de etiología violenta, con traumatismo torácico (N=23). (Aquí se incluyen los traumatismos múltiples, todos accidentes de tráfico).
- 5ª. Sujetos cuya muerte es de etiología natural (N=20) otras causas excluyendo la cardíaca. Aquí se incluyen los casos de enfermedad cerebrovascular, neumonía y embolismo pulmonar, insuficiencia renal aguda y hemorragia aguda.

Tabla 7. Distribución de grupos por causa de muerte.



Fueron obtenidas en el momento de la autopsia muestras de tejido cardíaco practicadas en 10 zonas diferentes.

- 1 muestra del Ápex:
A: Ápex.
- 1 muestra del tabique interventricular:
IT: tabique interventricular.
- 6 muestras de de ventrículo izquierdo:
IVIP: área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior.
IVIL: área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral.
IVID: área inferior del ventrículo izquierdo cara distal.
SVIP: área superior del ventrículo izquierdo cara posterior.
SVID: área superior del ventrículo izquierdo cara distal.
SIVIL: área superior del ventrículo izquierdo cara lateral.
- 2 muestras de ventrículo derecho:
IVD: área inferior del ventrículo derecho.
SVD: área superior del ventrículo derecho.

La causa de muerte se clasificó en cinco grupos, alcanzándose el diagnóstico tras la práctica de una autopsia completa, detallada y minuciosa, tal y como está establecido en los protocolos (Castellá, 2013; Basso, 2010; 2001; Orden de JUS/1291/2013 ministerial 13 de mayo BOE 120; Oliva, 2011). Esta clasificación es la establecida por el departamento de Medicina Legal de Murcia y de Granada en trabajos semejantes y ha sido aceptada por la comunidad científica internacional. La inclusión en uno de los grupos se realizó basándose en los antecedentes clínicos previos al fallecimiento, a la información obtenida durante el levantamiento del cadáver, a la autopsia y a los hallazgos toxicológicos e histopatológicos y de acuerdo con la similitud del mecanismo fisiopatológico de la causa de muerte.

- Muestras de tejido cardíaco obtenidas en el Departamento de Medicina Legal y Forense de la Universidad de Granada y analizadas en el departamento de Anatomía Patología de la misma Universidad, proceden de autopsias judiciales de 81 cadáveres de acuerdo con los estándares Europeos (Recomendación nº R99/3 of the committee of ministers to member states of harmonization of medico-legal autopsy rules, *Forensic Sci inter.*2000; 111: 5-58) y los mencionados anteriormente. Todos los cadáveres tenían una data conocida que

oscilaba entre 5 y 24 horas con una media de 15.27 ± 5.67 horas. Los cadáveres se mantuvieron refrigerados a 4°C desde la llegada al Instituto de Medicina Legal hasta la realización de la autopsia. La edad media de los sujetos fallecidos fue de 60.38 ± 16.50 años, constituida por 5 mujeres y 79 hombres.

Los grupos diagnósticos fueron:

- Asfixia Mecánica (ahorcamiento) (N=16 casos - 19.8%).
- Muerte súbita cardíaca isquémica (N=27 casos - 33.3%)
- Asfixia por sumersión (N=2 casos - 2.5%)
- Politraumatismo (N=16 casos - 16%)
- Muertes naturales (N=23 casos - 28.4%)

Para clasificar las muertes como muerte súbita cardíaca isquémica fueron establecidas de acuerdo con los hallazgos de la autopsia, criterios anatomopatológicos del corazón que correspondían con alguna de las dos situaciones que se detallan:

A) Diagnóstico anatomopatológico de infarto agudo de miocardio (IAM).- Establecido mediante estudio microscópico con H&E por el hallazgo de necrosis de miocardiocitos o bien existencia de infiltrado inflamatorio agudo, (constituida por polimorfonucleares, lo que nos indica un IAM en fase aguda) o por la existencia de infiltrados inflamatorios subagudos (formado fundamentalmente por linfocitos y macrófagos, también células plasmáticas y/o fibroblastos), que implica un IAM en evolución reciente (pocos días).

B) Diagnóstico de muerte cardíaca de origen isquémico: Sin signos de necrosis y/o sin infiltrados inflamatorios agudo. Pero en el estudio del anatomopatológico con H&E aparecen signos inespecíficos de isquemia (edema, congestión, ondulación de fibras, bandas de contracción) y/o infarto de miocardio antiguo (fibrosis de reemplazo) y además existe evidencia de cardiopatía isquémica severa (estenosis significativa coronaria superior al 70%), en al menos una rama principal y/o presencia de trombo coronario oclusivo. Todo ello junto con antecedentes personales de una cardiopatía isquémica y una vez descartadas otras causas de muerte mediante la realización de una autopsia completa.

Antes de la disección cardíaca se estudiaron en todos los casos las arterias coronarias principales y sus ramas más importantes. Realizándose cortes transversos y seriados de las mismas a lo largo de su recorrido, estudiándose se este modo el grado de estenosis que presentaba.

Posteriormente los corazones fueron disecados mediante cortes hacia el ápex (Lachica et al., 1988; Ramos et al., 1987; Haugen et al., 1992) obteniéndose entre 4 y 5 rodajas.

El manejo de todas las muestras se han ajustado a la ley de protección de datos (RD 1720/2007 de 21 de diciembre).

5. 2.- MÉTODOS BIOQUÍMICOS

5.2.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOQUÍMICAS

Líquido pericárdico.

Se obtuvo directamente mediante jeringuilla estéril del saco pericárdico, practicando una incisión en forma de ojal en cara anterior y desechando las muestras contaminadas con sangre.

Suero

Se obtuvo mediante centrifugación de muestras de sangre extraída de la confluencia de las venas ilíacas, previa evisceración del cadáver y mediante jeringa estéril.

Plasma

Se obtuvo mediante centrifugación de la muestra de sangre extraída de la confluencia de las venas ilíacas, previa evisceración del cadáver. Mediante jeringa estéril y se vertieron sobre tubos que contenían (K3EDTA) a una concentración de 4.55 ± 0.85 mmol/L de sangre.

5.2.2. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

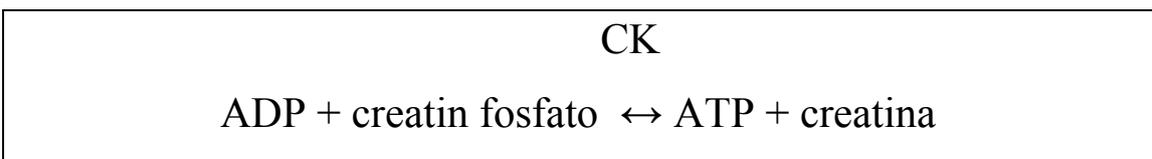
Se han analizado marcadores bioquímicos en plasma, suero y líquido pericárdico.

- . Isoformas de isoenzima CK-MM en plasma.
- . Isoformas de isoenzima CK-MM en líquido pericárdico.
- . Mioglobina en suero.
- . Mioglobina en líquido pericárdico.
- . CK-MB en suero.
- . CK-MB en líquido pericárdico.
- . Troponina I en suero.
- . Troponina I en líquidos pericárdico.

5.2.2.1. Isoformas de la creatin kinasa MB

El procedimiento "*Cardio REP@ CK Isoforms*" (Helena Laboratories Beaumont, Texas, USA) está desarrollado para el análisis cualitativo y cuantitativo de las isoformas de la creatin kinasa en plasma por electroforesis sobre gel de agarosa. La utilidad clínica del ensayo es el diagnóstico del infarto de miocardio.

La creatin Kinasa (CK) (EC 2.7.3.2) es un enzima transferidor de energía que cataliza la reacción reversible



La CK existe fundamentalmente en músculo esquelético, músculo cardíaco y cerebro, junto con pequeñas cantidades en otros tejidos. Diferentes episodios clínicos como procedimientos quirúrgicos, inyecciones intramusculares e infarto de miocardio producen un incremento de la actividad CK en suero. La fuente de elevación de la CK puede ser localizada con más precisión por la determinación de las isoenzimas.

Existen dos subunidades moleculares de la CK, designadas como M y B cuya combinación produce tres isoenzimas: CK-MM (aislada fundamentalmente del músculo esquelético), CK-MB (miocardio) y CK-BB (fundamentalmente del cerebro).

La creatin kinasa MM es un dímero con dos cadenas pépticas idénticas que contienen un fragmento de lisina carboxi terminal, este fragmento sirve como sustrato para la carboxipeptidasa sérica. Esta composición química particular constituye una de las tres isoformas de la CK-MM. La retirada de uno de los residuos de lisina por la carboxipeptidasa presente en el suero, crea una banda de migración más anódica, cuando se utiliza electroforesis de alto voltaje. La segunda isoforma aparece cuando se libera el grupo lisina carboxi terminal de una de las cadenas peptídicas y la tercera banda de isoformas cuando la lisina C-terminal es retirada de la segunda cadena peptídica. Migrando aun más anódicamente que las otras dos isoformas.

Existe una cierta controversia en lo referente a nomenclatura y numeración de las isoformas. La nomenclatura I.U.P.A.C. recomienda un sistema de numeración en el que la banda más anódica reciba el número 1, así en la separación de isoenzimas, la CK-BB

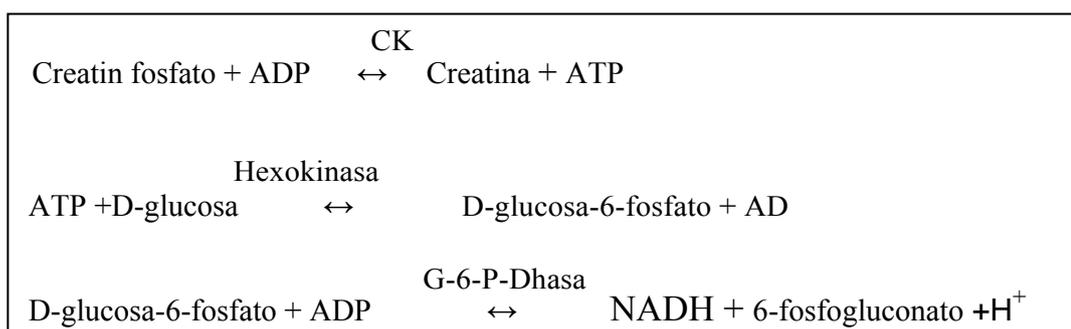
sería la CK-1, la CK-MB sería la CK-2 y la CK MM debería ser la CK-3. Del mismo modo la isoforma más anódica debería nombrarse con el subíndice 1, así la isoforma más anódica de la CK-MB será la CK-21, por tanto la isoforma no-modificada de la CK-MB debería ser la CK-22. Sin embargo la Sociedad Americana de Química Clínica (AACC), ha adoptado la nomenclatura de CK-BB, CK-MB y CKMM para las isoenzimas, y para las isoformas se introduce la notación del subíndice, siendo el número 1 para la isoforma más anódica, siendo por tanto la CK-MB1 la que migra más anódicamente y la CK-MM3 la que lo hace más catódicamente.

La comparación de las cantidades relativas de las subfracciones de CK-MB o CK-MM presentes en el suero, pueden utilizarse para estimar la extensión del tiempo transcurrido desde que la CK ha sido liberada desde las células. Algunos autores han reportado la existencia de hasta cinco isoformas de la CK-MM encontradas por isoelectroenfoque o técnicas de cromatografía en columna, pero actualmente el proceso químico que está detrás de este fenómeno y su significado clínico permanecen sin aclarar. De esta forma, la mejor aplicación químico-clínica que puede obtenerse es el derivado de la evaluación de las dos isoformas de la isoenzima CK-MB.

La electroforesis ofrece la ventaja principal de separación completa de los isoenzimas sin riesgo de contaminación con la banda anterior o carry-over. Trabajos recientes, que estudian la relación o ratio de las isoformas CK-MB2/CK-MB1 han demostrado una gran especificidad, sensibilidad y valor predictivo para la detección precoz (1-6 horas), del infarto agudo de miocardio o del daño miocárdico menor.

Principio del procedimiento

Las isoformas de la CK-MM y de la CK-BB se separan de acuerdo a su movilidad electroforética sobre gel de agarosa. Después de la separación, los geles se incuban con el reactivo para isoformas de la CK Cardio REP, que utiliza las siguientes reacciones:



Reactivos

- *Cardio Rep CK Isoforms Gel*

Composición: Cada gel contiene agarosa en un buffer Tris Barbital. Se han añadido Azida sódica y otros preservantes.

Preparación para el Uso: Los geles vienen listos para el uso al abrir el envase.

Almacenamiento y estabilidad: A temperatura ambiente (15°-30°C) en su envase protector, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la envoltura. Es preciso no refrigerar ni congelar los geles.

Signos de deterioro: Cualquiera de los siguientes signos pueden indicar deterioro del gel: (1) aspecto cristalino, lo que indicaría que la agarosa ha sido congelada, (2) signos de deshidratación del gel, grietas o descamaciones, (3) crecimiento bacteriano, que indicaría contaminación, (4) adelgazamiento de los bloques de gel.

- *Cardio Rep CK Isoforms Reagents*. Composición:

Oifosfato de 5'-Adenosina (AOP)	12 mM
Fosfato de creatina	90mM
Monofosfato de 5'-Adenosina (AMP)	15 mM
Acetato Magnésico	60mM
Nicotinamin adenin dinucleotido (NAO)	6mM
N-Acetilcisteina (NAC)	60mM
O-Glucosa	60mM
Glucosa 6-fosfato dehidrogenasa(L.mesenteroides)	7500 UI/L
Hexokinasa (Levadura)	9000 UI/L

Preparación para el uso: Se reconstituye cada vial de *Cardio Rep CK IsoformsReagents* con 3 mL de Diluyente *Cardio Rep CK Isoforms*.

Almacenamiento y estabilidad: El reactivo seco se almacena refrigerado (2° a 6°C) y es estable hasta la fecha de expiración del vial. Una vez reconstituido es estable 3 horas a temperatura ambiente. Signos de deterioro: Este reactivo no debería emplearse si antes

de reconstituir no presenta un aspecto de polvo seco y uniforme blanco o con un ligero oscurecimiento.

Cardio Rep CK Isoforms Diluent.

Composición:

El diluyente contiene MES, sucrosa y Triton X al 0.2%, con un 0.01% de azida sódica como agente conservante.

Preparación: Listo para su uso.

Almacenamiento y estabilidad: Si se almacena refrigerado (2°-6°C), es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el vial.

Signos de deterioro: No utilizar si se observan signos de crecimiento bacteriano.

Instrumental

Se utilizó una unidad Cardio REP[®] (Número de catálogo 1400) para la electroforesis, aplicación del reactivo, incubado y secado del gel. En el manual el operador se puede encontrar información adicional

Recolección y manejo de las muestras

El espécimen de elección es plasma fresco recogido sobre EDTA como anticoagulante. Aunque al principio se recomendaba que el ensayo para la separación y cuantificación de las isoformas debería ser realizado dentro de la hora siguiente a la recolección del plasma, para prevenir la conversión de isoformas. Estudios posteriores han demostrado que las muestras pueden almacenarse hasta 6 horas entre 2° y 8°C o tres días a -20°C.

Sustancias Interferentes

1. Los eritrocitos maduros no contienen CK, sin embargo algunas de las reacciones posteriores con los enzimas acoplados pueden ser modificadas, resultando en una infradosificación de la actividad CK, por lo que se recomienda evitar la hemólisis en la medida de lo posible.
2. La CK es inactivada por el calor.
3. Congelaciones y descongelaciones repetidas destruyen la actividad CK.

Procedimiento.

Material suministrado

Los siguientes reactivos se suministran con el kit *Cardio REP CK Isoform*:

Gel es Cardio REP CK Isoform	(10)
Reactivo Cardio REP CK Isoform	(10 x 3 mL)
Diluyente Cardio REP CK Isoform	(1 x 30 mL)
Secantes Cardio REP	(10)
Copas de Muestra Cardio REP	(60)

Material necesario no contenido en el Kit.

Calibrador 2 Cardio REP	Nº Cat. 3323
Solución REP Prep	Nº Cat. 3100
SUREprep	Nº Cat. 1574
Control Normal Cardio REP CK Recombinante	Nº Cat. 3320
Control Anormal Cardio REP CK Recombinante	Nº Cat. 3321

Instrucciones

Preparación del Reactivo : reconstituir el reactivo Cardio REP CK Isoform con 3 mL del diluyente Cardio REP CK Isoform. Mezclar por inversión y asegurarse de una disolución completa antes de su uso.

Preparación del instrumento:

1.- Utilizando las instrucciones provistas en el manual del operador, ajustar las siguientes condiciones sobre la pantalla del instrumento:

Volumen de muestra	1.0 µL
Punto de aplicación	28.00 nm from front pin
Tiempo de absorción de la muestra	01:30 min:sec
Voltaje de electroforesis	900 volts
Límite de corriente de electroforesis	60 mA
Temperatura de electroforesis	24°C

Tiempo de electroforesis	06:00 min:sec
Punto de Aplicación del Reactivo	23.00 nm front pin
Ciclos de extensión del reactivo	6
Tiempo de absorción del reactivo	01 :30 min:sec
Ciclos de retirada del reactivo	1
Temperatura de incubación	49°C
Tiempo de incubación	05:00 min:sec
Temperatura de secado	54°C
Tiempo de secado	02:00 min:sec

2.- Poner las 6 copas de muestra en los pocillos de muestra. Poner un secante Cardio REP sobre la bandeja de muestras en un área adyacente a las copas de muestra. Poner aproximadamente 2.5 mL de solución SUREprep en la ranura más exterior lava-sondas de la bandeja de muestras marcada con una "S", y otros 2.5 mL de agua des ion izada en la ranura más interior de la bandeja de muestras marcada con "H₂O". Reemplazar el SUREprep y el agua después de cada recorrido.

Aplicación de las muestras.

Es necesario la utilización del calibrador de isoformas de CK para la cuantificación de las mismas. Para ello se recomienda que se coloque una alícuota de 50-75µLde calibrador en la copa de muestra colocada en el pocillo #6. Esta referencia debe ser identificada tanto en la posición como en la concentración sobre el menú de archivo de paciente.

1. Pipetear 50-75µLde de control en la copa correspondiente al pocillo #1.
2. Depositar de 50-75µLde cada muestra en los pocillos #2-#5.
3. Dispensar 0.5mL de solución REP prep. Sobre la cámara de electroforesis y extiéndase por toda la superficie de la misma.

4. Retirar el envase protector del gel, secando bien la parte posterior para eliminar la humedad o restos de gel. Depositar el gel en la cámara con la agarosa hacia arriba y los agujeros de alineación apoyando en la parte derecha. El agujero de alineamiento redondo debe estar colocado hacia el frente y el ovalado en la parte de atrás de la cámara.

5. Poner el borde del gel pegado a la cámara del Cardio REP, alineando el agujero redondo con el pin de la cámara. Alinear a continuación los seis agujeros del bloque de gel con los seis pins, y presionar el gel hacia abajo alrededor de estos pins.

6. Mientras se coloca el otro extremo del gel, presionar firmemente para depositar la cara inferior del gel sobre la superficie de cámara que contiene la solución REP prep. Ajustar el segundo agujero de alineamiento y a continuación los otros seis agujeros del extremo del gel.

La existencia de bolsa de REP prep. O burbujas de aire bajo el gel puede comprometer la transferencia térmica. Quitar a continuación la cubierta protectora tirando de las dos esquinas y levantando suavemente hacia el operador. No secar alrededor de los bordes del gel.

7. Poner el vial de reactivo abierto y reconstituido en el soporte del vial.

8. Tocar el área "Start Run" de la pantalla táctil. El Cardio REP hará de forma automática la electroforesis, aplicará el reactivo, incubará, secará y escaneará el gel.

9. Las sondas de muestra deben estar perfectamente alineadas y el depósito de las mismas debe chequearse diariamente, por observación de los pocillos inmediatamente después de que la muestra haya sido dispensada. Las muestras deben estar completamente definidas por un perímetro nítido.

Evaluación de las bandas de Isoformas de CK.

El Cardio REP escaneará y cuantificará automáticamente las bandas desarrolladas sobre el gel. Si el densitómetro detecta una sola banda en el modo Auto Edit, aparecerá en la pantalla el mensaje "*Will Not Edit*" así como el mensaje "*Unable to calculate % MB*", que aparecerá sobre el informe. Siguiendo a la del densitómetro, el gel debe ser

inspeccionado para corregir manualmente los errores producidos por patrones deshilachados o sesgados que pueden afectar el modo Auto Edit.

Estabilidad del Producto final. El gel debe ser protegido de la luz si se quiere realizar una fotografía o inspección con luz U.V.

Resultados.

Las isoformas de la CK-MB migran más anódicamente que las de la CK-MM. La CK-MB1 es la banda más rápida y por tanto la más anódica de las MB.

Cálculo de resultados. El densitómetro Cardio REP calculará automáticamente e imprimirá el porcentaje relativo de la CK-MB1, CK-MB2 y la relación MB2/MB1. La actividad MB total en UI/L puede calcularse cuando se incluye un material de referencia en la serie.

Limitaciones

La linealidad se ha demostrado para al menos 50 UI/L por isoforma de MB (valor MB total de 100 UI/L). Otras enfermedades además del infarto de miocardio donde se ha observado incremento de la CK-MB incluyen:

- Insuficiencia coronaria severa
- Distrofia muscular de Duchenne
- Fiebre moteada de las Montañas Rocosas
- Rabdomiolisis
- Dermatomiositis
- Mioglobinuria
- Polimiositis
- Síndrome de Reye.

Valores de Referencia

El rango de referencia para este test fue generado empleando 55 especímenes de pacientes con posible patología cardíaca que subsiguientemente fueron definidos como no-infartos, con los siguientes resultados.

$MB2 < 2.6 \text{ UI/L a } 37^{\circ}\text{C}$

$MB2/MB1 < 1.7$

La actividad CK-MB debería ser menor del 5% de la actividad CK total y menor de 10 UI/L. Sin embargo, el valor de CK-MB total no debería utilizarse aisladamente como un indicador válido de infarto de miocardio. La relación MB2/MB1 junto con la MB2 total es un indicador diagnóstico más exacto. No obstante, cada laboratorio debe realizar su propio rango de referencia, debido a posibles variaciones en localización geográfica, edad, sexo, raza predominante etc.

Interpretación de los Resultados

La determinación de las isoformas de MB está concebida como un medio diagnóstico del infarto agudo de miocardio. En estado basal la MB2 está en equilibrio con la isoforma sé rica modificada MB1. Una liberación repentina de MB2 desde el tejido aparece en las horas iniciales de un IAM. Esto produce un aumento en la relación MB2/MB1 antes de que el valor de CK-MB exceda el límite de normalidad. De acuerdo con esto el ensayo de las isoformas de la isoenzima MB mejorará la especificidad de las pruebas de CK total y CK-MB.

La terapia trombolítica de pacientes con IAM debería ser optimizada por un marcador diagnóstico temprano que proporcionará cuanto antes el diagnóstico de IM, en comparación con los ensayos convencionales de CK y CK-MB. Ya que las isoformas de la CK-MM son más inespecíficas que las de MB, se prefiere el estudio de estas últimas, encontrándose en los trabajos de referencia que son más sensibles específicas y capaces de proporcionar diagnóstico de IAM dentro de las tres primeras horas del comienzo de los síntomas.

Isoformas de la CK-MM. Consideraciones e información adicional.

1. A menudo es la única isoenzima encontrada en el suero normal.
2. Se encuentra elevada en a) Daño en el músculo esquelético, b) Daño miocárdico, c) daño cerebral.

Isoformas de la CK-MB. Consideraciones sobre el resultado e información adicional.

1. Puede estar presente en el suero de sujetos normales en cantidades que oscilan del 0-5% de la actividad CK total.

2. Existe una indicación positiva de infarto de miocardio cuando se cumplen uno o más de los siguientes criterios: a) Características clínicas compatibles con síndrome coronario agudo, b) actividad CK-MB $\geq 5\%$ de la actividad CK total y valor mínimo de 10 UI/L, e) MB2 ≥ 2.6 UI/L a 37°C y una relación MB2/MB1 ≥ 1.7 .

Características del método

Precisión: Se utilizó un espécimen de control para demostrar la precisión del método para las medidas de CK-MB, MB1 y MB2. El control fue testado en concentraciones de 12, 9, 6 y 3 UI/L sobre dos geles. Los resultados fueron evaluados por el aparato de forma automática ("*Auto Edit mode*").

	Media	S.O.	CV%
N=12			
CK-MB total	12.0	0.62	5.2
MB1	6.0	0.30	5.8
MB2	6.0	0.30	5.8
N=12			
CK-MB total	9.2	0.68	7.3
MB1	4.5	0.37	8.3
MB2	4.7	0.33	7.0
N=12			
CK-MB total	6.0	0.70	11.6
MB1	2.9	0.40	13.4
MB2	3.1	0.30	10.3
N=12			
CK-MB total	3.6	0.20	6.2
MB1	1.8	0.10	8.1
MB2	1.8	0.10	5.0

Linealidad: El control fue de nuevo analizado por cromatoenfoco y utilizado como referencia, para demostrar su linealidad y sensibilidad analítica.

Se realizaron diluciones seriadas que fueron analizadas y testadas en el Cardio REP

Concentración de las diluciones	Cardio REP
50 UI/L	50.0 (referencia)
40	43.9
30	33.0
20	23.5
10	10.1
5.0	4.4
2.5	2.0
1.0	0.9

5.2.2.2. MIOGLOBINA

El ensayo *Mioglobin Acces* (Beckman Instruments) es un ensayo de quimiolumiscencia basado en la determinación cuantitativa mediante partículas paramagnéticas en fase sólida de los niveles de mioglobina en suero humano o plasma (EDTA) utilizando el sistema de inmunoensayo Access.

Principio del procedimiento

El ensayo de *Myoglobin Access* es un ensayo inmunoenzimático en sándwich. Se añade una muestra a un vaso de reacción con anticuerpos monoclonales de ratón antiglobulina – conjugado con fosfatasa alcalina y partículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos monoclonales de ratón antiglobulina. La mioglobina sérica humana se une a se une al conjugado de biotina anti-mioglobina y se inmoviliza sobre partículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo de cabra anti-biotina, mientras que el ratón conjugado de fosfatasa anti-mioglobina-alcalina reacciona específicamente con un sitio antigénico diferente en la molécula de mioglobina. Después de la incubación, la separación de un campo magnético y el lavado elimina los materiales no fijados a la fase sólida. Se añade sustrato de quimiolumiscente, Lumi-Phos*530, al vaso de reacción y utilizando un luminómetro se mide la luz generada por la reacción. La emisión de fotones es proporcional a la cantidad de analito en la muestra. Se determina por medio de una curva de calibración de puntos múltiples acumulada (ver manual de operador de referencia de Inmunoensayo Access).

La cantidad de muestra utilizada fue de 10 µg/L y las unidades de medidas utilizadas fueron Unidades SI (µg/L) y la técnica se realizó siguiendo el protocolo de Inmunoensayo Access.

Limitaciones del procedimiento

1. Las muestras pueden medirse de manera fiable entre el límite inferior de detección y el valor de calibración más elevado (aproximadamente 8.9 - 4000 ng/mL, µg/L). Si la muestra de mioglobina tiene un valor superior a la cifra máxima de calibración se comunica como valor superior a dicho valor y automáticamente se practica una dilución de la muestra con *Access Myoglobin diluent* N° de catálogo 33316 y el valor calculado se multiplica por dicho factor de dilución. Si la muestra contiene valores inferiores al límite inferior de detección se comunica como resultado menor a dicho valor.

2. Pueden existir anticuerpos antiratón (HAMA) en muestras de pacientes que hayan recibido inmunoterapia con anticuerpos monoclonales. Además pueden existir otros anticuerpos heterófilos, como anticuerpos anti-cabra.

3. El ensayo Myoglobin Access no muestra “efecto hook” discernible hasta 40000 ng/mL (µg/L).

Valores esperados

Según protocolo del procedimiento, los pasos seguidos fueron:

Medición de las concentraciones de mioglobina en 232 muestras de suero de mujeres y hombres aparentemente sanos utilizando el ensayo de “*Mioglobina Access*”. Utilizando una estimación no paramétrica del intervalo de confianza del 95%. Las muestras de suero de los sujetos sanos tienen valores inferiores a 70 ng/mL (µg/L).

Como ocurren con todos los test diagnósticos los laboratorios deben de establecer sus propios intervalos de referencia para garantizar una representación apropiada de poblaciones específicas.

Sensibilidad Analítica

El nivel más bajo detectable de mioglobina distinguible de cero (*Myoglobin Access SO Calibrator*) con un límite de confianza del 95% es 8.9 ng/mL.

Especificidad analítica

No se observó reactividad cruzada cuando se le añadió hemoglobina (5 g/L) a la muestra conteniendo mioglobina.

Calibradores de Mioglobina

Nº de catálogo 33315 según protocolo “*Calibración Access Myoglobin*”

Control de calidad para Mioglobina

Nº de catálogo 33319 Según protocolo *Access Myoglobin QC*.

Access es una marca registrada de Beckman Instrument, Inc.

Lumi-Phos 530 es una marca registrada de Lumigen, Inc.

5.2.2.3.ISOENZIMA MB DE LA CREATININ KINASA (CK-MB)

El método MMB para el sistema de química clínica Dimensión[®] con el módulo de inmunoensayo heterogéneo es un análisis de diagnóstico in vitro que tiene por objeto la determinación cuantitativa de la isoenzima MB de la creatinquinasa en suero y plasma humano para la confirmación del infarto agudo de miocardio.

Principios del procedimiento

El método de MMB es un enzimoimmunoensayo de una etapa basado en el principio sándwich. La muestra se incuba con partículas de dióxido de cromo recubiertas con anticuerpos monoclonales específicos contra la subunidad CK-B, y conjugado (~galactosidasa unida a anticuerpos monoclonales específicos contra la isoenzima CK-MB) (Birkmeyer et al., 1987). Durante el período de incubación se forma un sándwich partícula/CK-MB/conjugado. El conjugado que queda libre (no unido) se separa de la mezcla de reacción mediante una separación magnética y un lavado. El sándwich que

contiene la α -galactosidasa se combina con el sustrato cromogénico clorofenol rojo- α -D-galactopiranosido (CPRG). La hidrólisis del CPRG libera un cromóforo (CPR). La concentración de CK-MB presente en la muestra del paciente es directamente proporcional a la velocidad del cambio del color a 577 nm debido a la formación de CPR. La cantidad de proteína CK-MB se mide inmunológicamente y los resultados se expresan en unidades de masa (ng/mL o μ g/L/I).

Reactivos.

(Cartucho de Reactivos Flex® de Isoenzima MB de la Creatin kinasa en Masa)

Pocillos a	Forma	Ingrediente	Concentración b	Origen
1,2	Líquido d	Conjugado	e	Ratón, monoclonal
3,4	Tableta d	Anticuerpo- CrO ₂	0.9 mg/mL	Ratón, monoclonal
5,6	Tableta d	CPRG	15.7 mM	
7	Líquido	Tampón Diluyente del sustrato	175mM	
8	Líquido	Tampón Diluyente del sustrato	200mM	

- Los pocillos están numerados consecutivamente a partir del extremo ancho del cartucho.
- Valor nominal en el cartucho hidratado.
- El título del anticuerpo y la actividad del conjugado pueden variar de lote a lote.
- Las tabletas contiene excipientes, tampones y estabilizantes.

Precauciones: Las cubetas usadas contienen fluidos orgánicos humanos; manejar con el cuidado apropiado para evitar el contacto con la piel o la ingestión.

Preparación del Reactivo: La mezcla y la dilución son efectuadas automáticamente por el instrumento.

Conservación: Guardar a 2-8°C.

Fechas de caducidad: Los pocillos sellados o hidratados de cartuchos en el instrumento, son estables 30 días. Los pocillos 1-6 abiertos por el instrumento son estables 3 días. Los pocillos 7 y 8 abiertos por el instrumento son estables 10 días.

Muestras

Las muestras utilizadas para el análisis bioquímico, han sido suero y líquido pericárdico, recogidos según el procedimiento descrito anteriormente. Para prevenir la formación de fibrina en las muestras de suero, se debe esperar hasta la completa formación del coágulo antes de centrifugar.

Procedimiento

Materiales necesarios:

Cartucho de reactivos MMB Flex[®], Cat. N° RF420.

Cubiletos de Reacción, Cat. N° RXV1.

Solución de lavado, Cat. N° R0701.

Diluyente de Muestra, Cat. N° 791092901.

Proceso del Análisis

El muestreo, dispensación de reactivos, mezcla, separación, proceso e impresión de los resultados, son automáticamente efectuados por el sistema “*Dimensión*” con el módulo de inmunoensayo heterogéneo.

Condiciones de la prueba

Cubilete de reacción

- Volumen de muestra: 60µgL
- Anticuerpo-Cr₂: 50µgL
- Mmb Ab-B-galactosdasa: 50 µL
- Temperatura: 37°C
- Período de incubación: (lavado) 8 minutos (adición de muestra a
- Etapas de lavado: 5 minutos (3 lavados)

Cubetas

- Volumen transferido: 40 µL
- Volumen de sustrato (CPRG): 91 µL

- Volumen de diluyente: 279 μ L
- Temperatura: 37°C \pm 0. 1°C
- Período de incubación: 4 minutos (adición de muestra a lectura)
- Longitud de onda: 577 y 700 nm
- Tipo de medición: Cinética Bicromática
- Unidades: ng/mL (μ g/L)

Calibración

Para la calibración del método de MMB deben considerarse los siguientes datos:

Límites del análisis (a 37°C): 0.5-300ng/mL (μ g/L)

Material de referencia: Calibrador de la isoenzima MB de la creatinkinasa en masa (Cat. N°. RC420)

Niveles de calibración recomendados: 0, 10, 50, 150, 300 ng/mL (μ g/L)

Esquema de calibración. Replicados: 3@ Niveles 1,2 2@ Nivel 3
3@ Nivel 4 2@ Nivel 5

Frecuencia de calibración: Cada lote nuevo de cartuchos de reactivo o cada 60 días para el mismo lote

Coefficientes asignados: e, -130 C₁ 1800, C₂ -3,7, C₃ 750, C₄ 0,5

Control de calidad

Existe la posibilidad de un funcionamiento incorrecto del instrumento si se observa la precisión siguiente en 5 pruebas consecutivas:

MMB Concentración	D.E.(Desviación	Estándar)
0 ng/mL(μ g/L)	> 1.0 ng/mL (μ g/L)	
10 ng/mL (μ g/L)	> 1.1 ng/mL (μ g/L)	

300 ng/mL ($\mu\text{g/L}$)

> 20.0 ng/mL ($\mu\text{g/L}$)

Resultados

El instrumento calcula e imprime automáticamente la concentración de CK-MB en ng/mL ($\mu\text{g/L}$).

Limitaciones del procedimiento

Resultados: > 300 ng/mL ($\mu\text{g/L}$).

Dilución manual: Resultados superiores a 300 ng/mL ($\mu\text{g/L}$) deben repetirse después de diluir las muestras con el diluyente de muestras para obtener una concentración de la muestra dentro de los límites del análisis. Introducir un factor de dilución. Reanalizar. Los resultados quedan corregidos por la dilución efectuada.

- Autodilución (AD): Referirse al manual del sistema *Dimension*[®] para más información sobre el sistema de dilución automática. Los ensayos inmuno-específicos de una etapa tipo sándwich, son susceptibles de presentar un efecto prozona, en el que un exceso de antígeno impide la unión simultánea de los anticuerpos de captura y de detección a una molécula individual de analito (Ryal et al., 1982). Tales muestras deben ser diluidas y vueltas a analizar antes de informar el resultado. El método MMB no muestra efecto prozona hasta por lo menos 2000 ng/mL ($\mu\text{g/L}$).

Las muestras de pacientes pueden contener anticuerpos heterofílicos que podrían reaccionar en un inmunoensayo dando resultados falsamente altos o bajos. Este ensayo ha sido diseñado para minimizar la interferencia por anticuerpos heterofílicos (Vaidya, 1992).

El sistema de informes del instrumento proporciona mensajes de errores que advierten al operador sobre fallos específicos de funcionamiento.

Intervalo de referencia

Los niveles de CK-MB en personas sanas son bajos o indetectables. El intervalo de referencia para MMB fue calculado no paramétricamente y representa el 95% de la población.

El intervalo de referencia calculado para el sistema de inmunoensayo es del: 0- 3.6 ng/mL (μ L).

Criterios para el diagnóstico

Se recomienda un protocolo de muestreo secuencial para el diagnóstico del infarto agudo de miocardio. Un punto de corte >5 ng/mL (μ g/L) y un índice relativo (IR) $>0.4\%$ se sugieren como datos consistentes con un IAM. El IR se calcula expresando la masa de CK-MB como porcentaje de la CK total (masa de CK-MB/CK) x 100.

$$\frac{\text{Valor obtenido} \times 100}{(\text{muestra alta} + \text{muestra baja}) \times 2}$$

Ya que la sensibilidad diagnóstica y la especificidad así como el valor pronóstico dependen de la población, este punto de corte debe confirmarse en cada laboratorio. A causa de la superposición de resultados entre poblaciones con IAM y sin IAM, el poder discriminante y pronóstico del resultado variará con el corte elegido.

En muestras con resultados elevados de CK y CK-MB, un índice relativo de (IR)

puede utilizarse para diferenciar entre elevaciones de CK-MB debidas a daños en el músculo esquelético e IAM. Un IR $<1.5\%$ se sugiere como consistente con daños en el músculo esquelético (Skogen et al., 1991).

Sensibilidad Analítica

La sensibilidad del método MMB es 0.5 ng/mL (μ L) y representa la concentración más baja de MMB que puede ser distinguida de cero. Esta sensibilidad se define como la

concentración a dos desviaciones estándar por encima del Calibrador 0 ng/mL (μ L) de MMB (n=20).

Recuperación

Se mezclaron muestras con una cantidad conocida de CKMB con muestras de suero humano con un valor base de 0,1 - 0,5 ng/ml (μ g/L). Se midieron las concentraciones de las muestras y se calculó el porcentaje de recuperación. El intervalo de recuperación fue del 94.2% al 104% con una recuperación media del 98%:

-5.2.2.4. TROPONINA I CARDÍACA (*cTnl*).

Nº de catálogo 33320: 100 determinaciones, 2 estuches. 50 tests/pack. El ensayo Access Troponina I es un inmunoensayo quimioluminiscente con partículas paramagnéticas para la detección cuantitativa de niveles de troponina cardíaca I en suero humano y plasma (EDTA) utilizando el Sistema de Inmunoensayo Access.

Principios del procedimiento

El ensayo Access Troponina I es un ensayo inmunoenzimático (sándwich). Se añade una muestra a un vaso de reacción con anticuerpos monoclonales antitroponina I cardíaca conjugados con fosfata alcalina y partículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos monoclonales antitroponina I cardíaca. La troponina I cardíaca humana se une al anticuerpo anti-troponina I cardíaca en la fase sólida, mientras que el conjugado anticuerpo anti-troponina I cardíaca-fosfatasa alcalina reacciona con lugares antigénicos diferentes en las moléculas de troponina I cardíaca. Después de la incubación, la separación en un campo magnético y el lavado eliminan los materiales no unidos a la fase sólida. Se añade un sustrato quimioluminiscente. Lumi-Phos* 530, al vaso de reacción y se mide la luz generada por la reacción con un luminómetro. La producción de fotones es inversamente proporcional a la cantidad de conjugado enzimático presente al final de la reacción, y por consiguiente, a la concentración de troponina I cardíaca en la muestra. La cantidad de analito en la muestra se determina por una curva de calibración multipuntos almacenada.

Información del producto

Estuche de reactivos Access Troponin I: 2 estuches RI

RI a : Partículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos monoclonales de ratón anti-troponina cardíaca I suspendidos en tampón salino Tris. Con seroalbúmina bovina (BSA) y azida sódica al 0.05%.

RI b: NaOH 0.1 N

RI c: Ácido succínico 0.08 M

RI d: Inmunoglobulinas purificadas de ratón, en tampón Tris-CINa, azida sódica al <0.1 % Y Proclin** 300 al 0.06%.

RI e: Conjugado: anticuerpos monoclonales de ratón anti-troponina cardíaca I conjugados con fosfatasa alcalina en tampón Tris-CINa, con BSA azida sódica al <0.1%.

Muestras utilizadas

En el presente trabajo se han empleado muestras de suero y de líquido pericárdico obtenidas según el procedimiento descrito.

Procedimiento:

•Material suministrado

Estuches de reactivos Access Troponin I

• Material necesario pero no suministrado

1. *Calibradores Access Troponin I*.

Suministrados a cero y aproximadamente a 0.1, 0.5, 2, 10 y 50

ng/mL (□L/L)

Nº de catálogo 33325

2. *Sustrato Access*

Nº de catálogo 81906

3. Tampón de lavado Access

4. Materiales para control de calidad: Access Troponin/(n° de catálogo 33329) u otro suero de control comercial.

Comentarios sobre el procedimiento

N° de catálogo 81907

1. Se mezclan los contenidos invirtiendo suavemente el estuche varias veces antes de cargarlas en el aparato. No invertir los estuches abiertos (perforados) - mezclar los reactivos girando suavemente el envase.

2. Se utilizan 50 (L/L) de muestra en cada determinación. Consultar en la sección sobre envases de la guía del operador el volumen mínimo de muestras requerido.

3. Los resultados de las muestras se comunican en ng/mL. No obstante, el sistema puede comunicar los resultados en unidades del SI ($\mu\text{L/L}$).

Consultar en el apartado de Configuración del sistema del Manual de Referencia las instrucciones detalladas. Para convertir las concentraciones ng/mL en unidades del SI ($\mu\text{L/L}$) multiplicar ng/mL por 1.

4. El ensayo se efectúa a 37°C y el primer resultado se obtiene en 15 minutos.

Procedimiento

1. Se accede a la pantalla de solicitud de test desde el Menú principal.

2. Se asigna una posición en la bandeja a cada muestra, introducir la información de la muestra y especificar las pruebas que se van a realizar.

3. Se coloca el tubo con la muestra del paciente en la bandeja de muestras o transferir la muestra a un tubo de muestra y colocado en la posición designada en la bandeja de muestras.

4. Pulsar la tecla de ejecución para iniciar el proceso.

5. El sistema pedirá al usuario que realice las calibraciones necesarias.

6. El sistema calculará los resultados de la prueba.

Detalles de calibración

Se precisa una curva de calibración activa para todos los ensayos. Para el ensayo de Troponina I, es necesario realizar una calibración cada 28 días a fin de mantener una curva de calibración activa.

Resultados

El software del sistema determina automáticamente los resultados de la prueba del paciente mediante un modelo matemático basado en una curva "smoothing spline". La cantidad de analito presente en la muestra es determinada a partir de la producción de luz medida mediante una curva de calibración almacenada. Los resultados de las muestras de los pacientes se pueden revisar utilizando la pantalla Resultados de Muestras.

Limitaciones del procedimiento

1. Las muestras se pueden medir con exactitud dentro del rango comunicable del límite inferior de detección y el valor más elevado del calibrador (aproximadamente 0.03-50 pg/mL). Si una muestra contiene más troponina I que el valor declarado del calibrador S5, se diluye un volumen de muestra con un volumen igual de Diluyente de Muestras Access Troponin 1, disponible en un estuche separado (Nº de catálogo 33326). Una vez analizada la muestra diluida, se multiplica el valor calculado por el factor de dilución 2.
2. Pueden existir anticuerpos humanos antiratón (HAMA) en muestras de pacientes que hayan recibido inmunoterapia. Este ensayo se ha formulado específicamente para minimizar los efectos de esos anticuerpos sobre el ensayo. Sin embargo, es necesario evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sabe que han recibido esa terapia o que contienen otros anticuerpos heterófilos.
3. El ensayo Access Troponin 1 no tiene efecto prozona discernible hasta 600 ng/mL($\mu\text{L/L}$)

Valores esperados

Los niveles de troponina I se midieron en 906 muestras de suero humano procedentes de sujetos aparentemente sanos.

Los datos fueron los siguientes:

n	Valores Observados (ng/mL, $\mu\text{L/L}$)
906	<0.08

1. Se midieron las concentraciones de troponina I en 906 muestras de plasma (EDTA) de un banco de sangre. Según estos datos. Se determinó que el valor de la mediana de troponina I era 0.0 ng/mL y el límite superior del intervalo no paramétrico del 95% era inferior a la concentración media mínima detectable del ensayo (<0.03 ng/mL).

2. En la práctica clínica el valor de corte por encima del cual una muestra se considera positiva es de 0.1 ng/mL. Sin embargo, en los pacientes en las primeras fases de un infarto agudo de miocardio el valor puede oscilar entre 0.07 y 0.1 ng/mL.

3. Después de un infarto de miocardio, las concentraciones de troponina cardíaca I aumentan rápidamente y llegan a un máximo (10 horas), después vuelven a los valores normales a los 5-6 días. La Organización Mundial de la Salud (OMS) requiere que se cumplan dos de los siguientes criterios para confirmar un infarto agudo de miocardio: cambios evolutivos en el electrocardiograma, elevación de las enzimas cardíacas e historia de dolor torácico característico.

4. Al igual que con todas las pruebas diagnosticadas, cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia para garantizar una representación adecuada de las poblaciones específicas y tipos de muestras y reflejar la práctica y criterios actuales para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio en su institución. Cada laboratorio debe evaluar si las muestras en suero y plasma (EDTA) se pueden utilizar indistintamente.

5. Interpretar los resultados de troponina I a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluyendo la historia clínica, los resultados de troponina I de muestras en serie, datos de pruebas adicionales y cualquier otra información apropiada.

6. Toda afección que produzca lesiones en las células del miocardio puede elevar los niveles de troponina I cardíaca por encima del rango esperado. Los estudios clínicos han documentado que esas afecciones incluyen angina inestable, insuficiencia cardíaca congestiva, miocarditis y cirugía cardíaca o pruebas invasivas.

Sensibilidad Analítica

El nivel más bajo detectable de troponina cardíaca I distinguible de cero (Calibrador Access Troponin I SO) con un límite de confianza del 95% es 0.03 ng/mL. Se calcula a partir de 50 (n=10) y S1 (n=10) con la siguiente fórmula:

$$\frac{2 \times \text{DS de SO en ULRs}}{[\text{ULRs de SI} - \text{ULRs de SO} \times [\text{S1 ng/ml}]}$$

DS = Desviación estándar

Especificidad Analítica

La adición de 100 ng/mL de troponina esquelética I a una muestra negativa no mostró ninguna reacción detectable sobre el límite de detección del ensayo (0.03 ng/mL).

Calibradores de troponina

Nº de catálogo 33325

El juego de calibradores Access Troponin I (matriz de suero humano tamponado) se utiliza para calibrar el ensayo Access Troponin I para la detección cuantitativa de niveles de troponina cardíaca I en suero humano y en plasma (EDTA) utilizando el Sistema de Inmunoensayo Access.

Resumen y explicación

Se ensayan calibradores con cantidades conocidas de analito y las respuestas medidas se utilizan para establecer una curva de calibración. La curva de calibración se introduce en el aparato y se utiliza para convertir las mediciones de RLU (unidades ligeras relativas) de cantidades desconocidas a concentraciones cuantitativas de analizados.

Información del producto

- Calibradores Access Troponin I: 1 mL/vial. Liofilizados.

SO: Matriz de suero humano tamponado con kathon*** al 0.1%. Contiene 0.0 ng/mL (\square L/L) de troponina cardíaca I.

S1, S2, S3, S4, S5 : Troponina cardíaca I humana a niveles de aproximadamente 0.1, 0.5, 2, 10 y 50 ng/mL (μ g/L), respectivamente, en matriz de suero humano tamponado con Kathon al 0.1%. Para información adicional sobre las concentraciones exactas, consultar tarjeta de calibración y las etiquetas de los viales.

- Tarjeta de calibración: 1

Detalles de calibración

Los calibradores Access Troponin I se suministran a los siguientes niveles aproximadamente: 0, 0.1, 0.5, 2, 10 y 50 ng/mL, preparados diluyendo troponina

cardíaca I humana en matriz de suero humano tamponado. La calibración del ensayo se validó durante 28 días.

Control de Calidad de Troponina I

Nº de cat. 33329

El control Access Troponin I QC utiliza para controlar el funcionamiento del ensayo Access Troponin I.

Resumen y explicación

Los materiales de control de calidad basados en suero simulan las características del suero de pacientes y son esenciales para controlar la exactitud y precisión de los ensayos inmunoquímicos. Además, son parte integral de una buena práctica de laboratorio. Cuando se realicen ensayos con reactivos Access Troponin I, incluido suero de control para validar la integridad de los ensayos. Los valores ensayados deben estar dentro del rango aceptable si el sistema de ensayo funciona adecuadamente.

Información del producto

- Access Troponin I QC 2.5 mL/vial. Seis viales liofilizados, 3 niveles.

2 x OC1 : troponina I cardíaca a un nivel de aproximadamente 0.25 ng/mL($\mu\text{g/L}$), en matriz de suero humano tamponada conteniendo Kathon al 0.1 %. Para la concentración exacta, consultar la tarjeta de control de calidad.

2 x OC2: Troponina I cardíaca a un nivel de aproximadamente 5 ng/mL($\mu\text{g/L}$), en matriz de suero humano tamponado conteniendo Kathon al 0.1%. Para la concentración exacta, consultar la tarjeta de control de calidad.

2 x OC3 : Troponina I cardíaca a un nivel de aproximadamente 25 ng/mL($\mu\text{g/L}$), en matriz de suero humano tamponada conteniendo Kathon al 0.1%. Para la concentración exacta, consultar tarjeta de control de calidad.

- Tarjeta de control de calidad:

Valores esperados

Se ensayan muestras representativas de todo el lote. El número de muestras se selecciona para proporcionar un estimado fiable del valor medio. Las variaciones en la técnica, los equipos, reactivos, etc., pueden producir valores medios distintos de los citados; por consiguiente, cada laboratorio debe establecer sus propios valores medios y desviación estándar (DS) una vez hayan recogido datos suficientes. Consultar en la tarjeta de valores de QC los valores medios y desviación estándar declarados.

Diluyente de troponina

Nº de catálogo 33326

El diluyente *Access Troponin I diluent* (matriz de suero humano) se utiliza con el ensayo Access Troponin I para diluir las muestras de los pacientes que contengan concentraciones de troponina cardíaca I superiores al Calibrador S5 de troponina I.

Resumen y explicación

Como consecuencia de las lesiones en el miocardio, la liberación de troponina cardíaca I puede superar el nivel del Calibrador S5 de Troponina I.

Para obtener un valor cuantitativo hemos diluido la muestra a fin de determinar la concentración de troponina I.

Información del producto

- Access Troponin I Diluent. 4 mL/vial. Líquido.

Matriz de suero humano tamponada con Kathon al 0.1%. Contiene 0.0% ng/mL($\mu\text{g/L}$), de troponina cardíaca I.

Procedimiento

Las muestras se pueden medir con exactitud dentro del rango comunicable del límite inferior de detección y el valor más elevado del calibrador (aproximadamente 0.03-50 ng/mL ($\mu\text{g/L}$)). Si una muestra contiene más troponina I que el valor declarado del calibrador S5, se diluye un volumen de muestra con un volumen igual de Diluyente Muestras Access Troponin I.

Una vez analizado la muestra diluida, se multiplica el valor calculado por el factor de dilución dos (2).

Access es una marca registrada de Beckman Instruments, Inc.

*Lumi-Phos 530 es una marca de Lumigen, Inc.

**Prodin 300 es una marca registrada de Rohm y Hass Company, o sus subsidiarias o afiliadas.

***Kathon es una marca registrada de Rohm y Hoas Company, o sus subsidiarias o afiliadas.

5.3.1. LIPOPEROXIDACIÓN EN TEJIDO CARDÍACO

Principio de la técnica

El malonildialdehído (MDA), formado durante la descomposición de los productos de la lipoperoxidación, es utilizado como un indicador de estrés oxidativo en células y tejidos. Este producto reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) dando una coloración rosada, de manera que su concentración puede ser determinada mediante un método colorimétrico (Ohkawa et al., 1979).

Proceso bioquímico

En el proceso del análisis bioquímico llevamos a cabo dos fases: la primera de extracción de lípidos del tejido miocárdico y la segunda de determinación de la peroxidación en los lípidos extraídos (Radin, 1969; Ohkawa et al., 1979; Esterbauer, 1990).

Reactivos

- Cloroformo-metanol en solución 2:1, v/v.
- 2,6-di-tert-butyl-p-cresol (50 µg/mL).
- Acido tricloroacético en solución acuosa al 20% (p/v).
- Acido tiobarbitúrico en solución acuosa al 0.67% (p/v).
- Metanol puro.
- NaCl en solución salina al 0.9%.
- Análogo de MDA (Malonildialdehído): 1,1 ,3,3-tetrametoxipropeno, bis (dimetilacetal) malonilaldehido 99%.
- HCl (ácido clorhídrico) 0.1 N.

1ª.- Extracción de grasas

Esta fase consiste en la extracción lipídica mediante la utilización de una mezcla de cloroformo y metanol como disolvente (Radin, 1969).

Cada muestra de tejido miocárdico de 0.250 gramos de peso fue lavada con agua bidestilada y secada en papel absorbente antes de su homogeneización en un potter, Vidra Foc 777/2, sobre un baño de hielo picado, durante 5 minutos en una solución de cloroformo-metanol (2:1), v/v) y butil-cresol utilizado como antioxidante, para asegurarnos de que no se produce oxidación lipídica durante el ensayo. Tras una perfecta homogeneización pasamos el contenido del potter a un tubo de centrífuga, procediendo a la centrifugación de la muestra a 3000 r.p.m. a 4°C, durante 15 minutos.

La fase orgánica fue extraída con una pipeta de 1 mL, quedando en el tubo un precipitado de sustancias no lipídicas desechables, sometiéndose a continuación a dos lavados: el primero de ellos con 5 mL de agua bidestilada, agitando y retirando la fase superior acuosa y el segundo, con agua bidestilada y metanol (1:1 v/v) dejando reposar 24 horas en el frigorífico. La fase superior resultante contiene la mayor parte de contaminantes no lipídicos como glucosa, sales, urea, sucrosa y otras moléculas pequeñas. La fase lipídica fue evaporada en una corriente de nitrógeno, pesada y redisuelta en metanol (1:1 v/p).

2ª.- Determinación de la peroxidación lipídica.

Esta fase consiste en la aplicación del test del ácido tiobarbitúrico (TBA).

Se añadieron 2.5 volúmenes de una solución fría de ácido tricloroacético al 20% (p/v) para precipitar las proteínas y un volumen de ácido tiobarbitúrico al 0.67% (p/v). Esta solución se calentó al baño maría (90-100°C) durante 10-15 minutos. Tras dejar enfriar los tubos de ensayo, el cromógeno de color rosáceo obtenido fue medido en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 532 nm. Para ello se utilizaron macrocubetas de plástico desechables, introduciendo para su lectura 2 mL por cada ensayo. Cada medición fue realizada siempre frente a una muestra blanco o control consistente en metanol, ácido tricloroacético y ácido tiobarbitúrico (1:2.5:1 v/v/v).

Los niveles de MDA fueron estimados utilizando una curva patrón de 1,1,3,3-tetrametoxipropeno, bis (dimetilacetal) malonilaldehído 99%. Los niveles de MDA fueron expresados como nmol/g de tejido procesado.

5.3. Métodos histológicos

5.3.1. Selección de tejido para la realización de micromatrices.

Una vez revisados y clasificados todos los casos incluidos en el estudio se seleccionó una zona representativa sobre la preparación histológica de cada área y caso estudiado. Alrededor de la cual se trazó un círculo con rotulador indeleble, haciéndolo coincidir esta área con la obtenida con aguja en el proceso de creación de micromatrices de tejidos.

5.3.2. Elaboración de micromatrices de tejido.

Los casos seleccionados fueron incluidos de forma correlativa en las matrices de tejido (TMA); para su construcción se siguió el procedimiento estándar aplicado en el protocolo del Banco de Tejidos y Tumores de Andalucía (RBTA) a partir de la selección previa del área a estudiar en la sección teñida con hematoxilina-eosina (H&E) y posterior localización en el bloque de parafina.

Los casos seleccionados fueron recogidos en una tabla Excel dispuestos de forma correlativa.

Como guía de ubicación de cada muestra en las micromatrices se realizó una plantilla con una sucesión de discos en la que cada disco representaba una muestra. Se conservó el mismo orden cronológico que en la tabla Excel. Esta plantilla tiene 2 ejes uno horizontal (eje X) con los números del 1 al 5 y otro vertical (eje Y) con las letras de la A a la H de tal forma que cada muestra incluida en la plantilla corresponda a unas coordenadas alfanuméricas que permitieran su identificación.

Con la finalidad de facilitar la orientación espacial en cada una de las micromatrices, se introdujo un control (tejido linfoepitelial procedente de amígdala) el cual se situó en una posición fija en el extremo superior del bloque receptor de parafina.

A continuación se detalla el procedimiento de construcción de micromatrices utilizado el microarrayer Tissue Arrayer 2 (Beecher Instruments[®], Silver Spring, MD, USA):

A partir de la plantilla de coordenadas antes mencionada se estableció un orden de muestra a importar por un proceso manual, al bloque receptor (bloque de parafina en blanco), Histosec pastillas[®], MERCK el cual fue previamente devastado para obtener una superficie lo más lisa posible.

Se seleccionó el grosor de la aguja (4 mm) tanto para el bloque donante como para el receptor. Este es el grosor máximo en el microarrayer, y se seleccionó con la finalidad de disponer la mayor cantidad de tejido representativo.

El microarrayer empleado consta de 2 agujas, cada una de ellas está identificadas por un color para su ubicación y empleo correcto, siendo la aguja roja la utilizada para hacer el agujero receptor, situándose en el lado izquierdo y la aguja azul, situada en el lado derecho, la empleada para obtener e introducir el cilindro de tejido.

Se inicia el proceso ajustando los micrómetros del microarrayer a cero, con la finalidad de alinear las columnas y filas de la matriz.

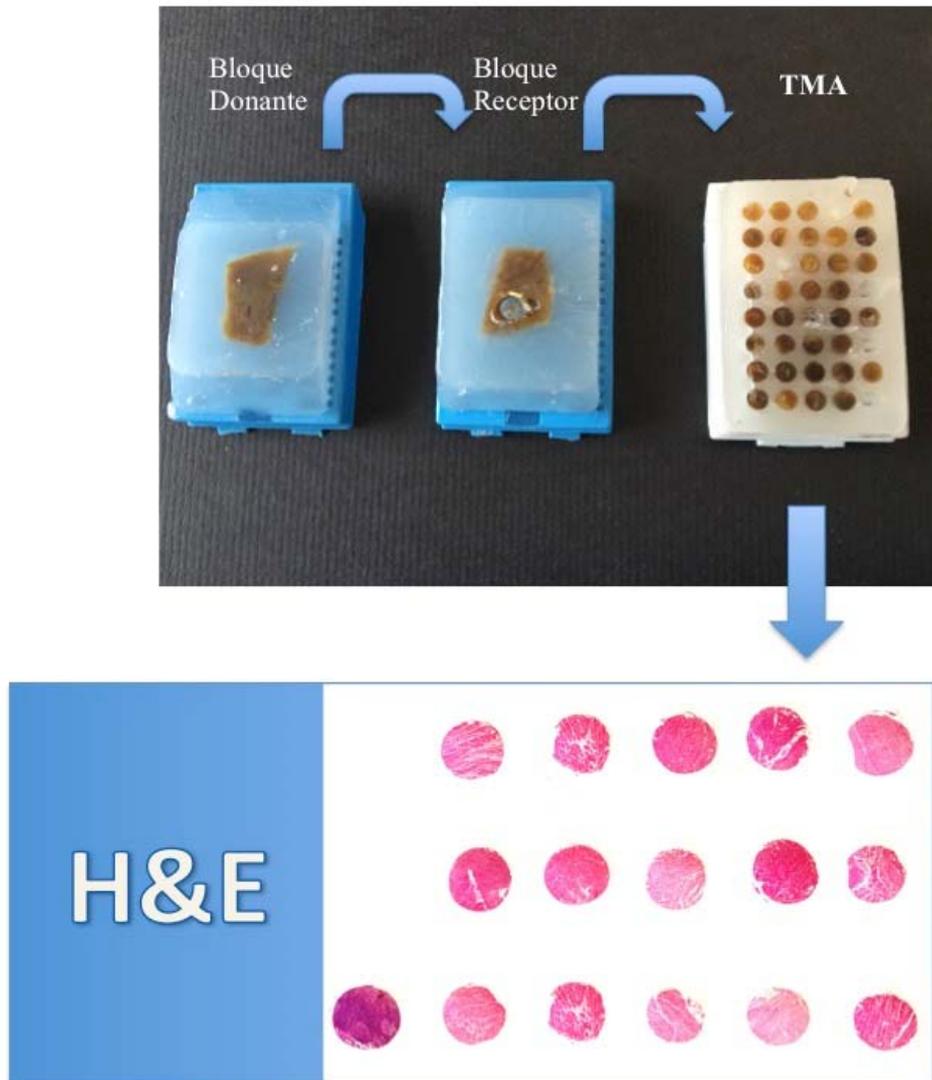
Se selecciona la profundidad máxima del cilindro receptor (lo más profundo posible sin llegar a contactar con el material plástico del casete, a fin de evitar la rotura de la aguja al realizar la perforación).

Con la aguja roja se realiza la perforación en el bloque receptor extrayendo el cilindro blanco (se empuja el cilindro con el embolo de la aguja y se señala sobre la aguja azul la longitud de éste para evitar que el cilindro de tejido a incluir con la aguja azul sobrepase la longitud del hueco del cilindro receptor).

Posteriormente se coloca la plataforma debajo de las agujas y se retira del bloque donador el cilindro a incluir, con la aguja azul.

Seguidamente se retira la plataforma y se introduce, el cilindro de tejido tomado en el hueco realizado en el bloque receptor en “blanco”, sin introducir el cilindro totalmente, enrasándose posteriormente con un porta todos los cilindros en el bloque receptor.

Esquema 1.: Confección de las matrices de tejido (Tissue array -TMA)



Con la ayuda de los ejes se realizan los desplazamientos para continuar con los siguientes implantes.

Estos pasos representados en el se repitieron tantas veces como discos existentes hay en la plantilla, hasta su finalización.

Una vez desarrollado el bloque se introdujo 30 minutos en una estufa a 37°C para conseguir una correcta homogeneización.

Se crearon un total de 13 bloques para las muestras procedentes de Murcia y 15 bloques para las procedentes de Granada. Posteriormente se realizaron cortes a 3 micras para la secciones teñidas con H&E, así como para cada una de las técnicas inmunohistoquímicas.

5.3.3. PROCEDIMIENTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA PARA MUESTRAS INCLUIDAS EN PARAFINA

-5.3.3.1. FABRICACIÓN DE LAS MICROMATRICES TISULARES

Los diferentes bloques de parafina con las muestras de tejido muscular cardíaco de las diferentes localizaciones del corazón procedentes de material de autopsias constituyeron los bloques TMA donantes.

- Montar sobre micrótopo de rotación el bloque de parafina (TMA) enfriado a 4°C.
- Obtener secciones de tejido en parafina de 3µm de espesor.
- Recoger en baño de flotación sobre portaobjetos tratados con silene especiales para inmunohistoquímica.
- Secar en estufa a 37°C durante 16 horas y posteriormente,
- Introducir las en estufa a 60°C hasta el momento de comenzar la técnica (1-3 horas a 60°C).

Montar sobre rack específicos.

5.3.3.2. PROTOCOLO DE PRETRATAMIENTO EN MÓDULO PT PARA MUESTRAS

PARAFINADAS

Este procedimiento incluye la desparafinación, hidratación y desenmascaramiento antigénico por calor en un único paso de las secciones de tejido parafinadas.

Rellenar el tanque 1500 mL de solución de desparafinación/desenmascaramiento antigénico: tampón EDTA pH 8.0 1x (Master Diagnóstica, Granada, España).

Programar en el dial del Módulo PT la temperatura y tiempo de contacto, siempre evitando la ebullición.

- Precalentar el tampón EDTA a 65°C.
- Introducir las preparaciones en el tanque del Módulo PT en los rack específicos colocando hacia abajo los portaobjetos.
- Comenzar el ciclo del Módulo PT: 20 minutos a 95°C.
- Extraer las preparaciones del tampón cuando este se ha enfriado hasta 65°C.
- Impedir que se sequen cubriendo las preparaciones con tampón de lavado.
- Continuar con la técnica de inmunotinción en inmunoteñidor automático (Autostainer480A) (Termo Fisher):
- Programar el inmunoteñidor: seleccionando número de portas, protocolo a seguir y anticuerpos a realizar sobre la plantilla que ofrece el programa de ordenador.

5.3.3.3. PROCEDIMIENTO INMUNOHISTOQUÍMICO BASADO EN MICROPOLÍMEROS

CONJUGADOS CON PEROXIDASA

Una vez colocados los portaobjetos de manera horizontal en el orden adecuado, seleccionados los anticuerpos prediluidos, los componentes de kit de visualización y revelado listos para uso se procede al inicio de la técnica automatizada.

A) REACTIVOS:

- Tampón de lavado: Tampón TBS con Tween 20.

- Agua destilada.
- Bloqueante de la peroxidasa endógena “listo para uso” (Master Diagnóstica, Granada España).
- Anticuerpos prediluidos “listos para uso”.
- Anticuerpo secundario amplificador.
- Micropolímero conjugado con peroxidasa que detecta tanto anticuerpos primarios obtenidos en ratón como en conejo.
- Diaminobenzidina (DAB) “lista para uso”.
- Potenciador de la DAB.

Todos los reactivos fueron adquiridos a Master Diagnóstica.

B) PASOS:

Todo el proceso se desarrolla a temperatura ambiente.

- Lavado con TBS Tween 20
- **Bloqueo de peroxidasa endógena** con peróxido de hidrógeno, durante 10 minutos.
- Lavado con tampón TBS Tween 20, durante 1 minuto.
- Eliminación del reactivo por soplado automático sobre el portaobjetos.
- Incubación del **Anticuerpo Primario**, durante 10 minutos (en la tabla 8 se especifican los anticuerpos prediluidos utilizados así como su clón).
- Lavado con TBS Tween 20, durante 1 minuto.
- Eliminación del reactivo por soplado automático sobre el portaobjetos.
- Incubación con el **Anticuerpo secundario amplificador**, durante 10 minutos.
- Lavado con TBS Tween 20.

- Incubación con **micropolímero** (*anti-mouse+anti-rabbit*) conjugado con Peroxidasas, durante 10 minutos.
- Lavado con TBS Tween 20.
- Eliminación del reactivo por soplado automático sobre el portaobjetos.
- Revelado de las muestras con solución **DAB** lista para uso, durante 5 minutos.
- Un lavado con agua destilada de 1 minuto.
- **Intensificación** de la DAB durante 2 minutos con **potenciador** listo para uso.
- Lavado con agua destilada.

Se extraen los portaobjetos y colocados en un rack se sumergen para su contraste en:

- **Hematoxilina progresiva de Mayer**, durante 1 minutos.
- eliminar el exceso de colorante mediante lavado en agua destilada.
- Lavar con agua del grifo, durante 5 minutos para azulear la hematoxilina.
- Deshidratación con alcoholes de graduación creciente (30°, 70°, 80°, 2 baños de alcohol absoluto y aclarado con 3 baños de xileno) de 3 minutos cada uno.
- Montaje de las preparaciones de forma rutinaria con Eukitt[®].

Para el estudio inmunohistoquímico se utilizaron los siguiente anticuerpos (ver relación de anticuerpos en tabla 8).

Tabla 8. Relación de anticuerpos monoclonales empleados en el trabajo de tesis.

Anticuerpo	Clon	Origen	Concentración	Casa comercial
Troponina I	Troponin I-C (C5)	Monoclonal de ratón	Prediluido	LSC Santa Cruz Biotechnology, INC.
Troponina T	Troponin T-C (1F2)	Monoclonal de ratón	Prediluido	LSC Santa Cruz Biotechnology, INC.
Nogo-A	6 A 5.2	Monoclonal de ratón	Prediluido	Master Diagnóstica
PARP1	A 6.4.12	Monoclonal de ratón	Prediluido	Master Diagnóstica
Vimentina V9		Monoclonal de ratón	Prediluido	Master Diagnóstica

C) VALORACIÓN DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA

La expresión de la tinción inmunohistoquímica de todos los anticuerpos utilizados se determinó de 2 formas (en la valoración de la expresión inmunohistoquímica se consideró necesario la presencia mínima de 100 células para ser incluida en el estudio).

- Semicuantitativa - Se consideró la totalidad del disco en estudio. Se realizó el estudio de todos los casos mediante examen microscópico (Olympus BH2) por 2 investigadores a doble ciego, contrastándose y reevaluándose los resultados con una discrepancia. Los criterios evaluados fueron “Intensidad” empleando una escala de 0 a 3 (ausente, leve, moderada o intensa de expresión del marcador en los miocardiocitos) y “Extensión” con valores 0: para inmunotinción inferior al 10% de las células; +1: para valores de inmunotinción entre 10-25% de las células; +2: tinción entre 26-50% de las células; +3: tinción por encima del 50% de las células.
- Cuantitativa mediante, análisis de imagen. Se seleccionó un área representativa que correspondiera a la media de la muestra dentro del disco a estudio y se realizó fotografía una a una a cada disco a magnificación 10x (con microscopio Olympus BX 41) y su análisis posterior mediante el software ImageJ v1.48 (Image Processing and Analysis in Java, National Institutes of Health) los parámetros

tomados para su correlación con el método semicuantitativo fueron “Intensidad de la inmunotinción” y “porcentaje de inmunotinción”. Se estableció un valor de tinción de fondo inespecífico a partir de las muestras negativas estableciéndose un punto de corte (*Cut-off*) que fueron para troponina I y T en las muestras procedentes de “Murcia” negativo para valores ≤ 0.0057 y positivo ≥ 0.006 para “Intensidad” y para “% de Área” negativo para valores inferiores o iguales a 5.8% y positivos para valores $\geq 6\%$. Para las muestras procedentes de “Granada” fue negativo para valores ≤ 0.007 y positivas para valores iguales 0.008 para “Intensidad” y para “% de Área” negativo para valores $\leq 6.9\%$ y positivo para valores $\geq 7.2\%$.

En relación a Nogo-A, tanto para las muestras de Murcia como Granada, fue negativo para valores de “Intensidad” ≤ 0.006 y positivo para valores ≥ 0.007 y para “% de Área” negativo para valores ≤ 5.8 y positivo para valores ≥ 6 .

5.4. ANÁLISIS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los datos recogidos fueron introducidos en el programa informático SPSS, versión 20.0 (SPSS Institute Inc., Cary NC, USA). Los datos fueron depurados y transformados.

En el análisis exploratorio o análisis preliminar de datos en el que detectaron posibles datos extremos u *Outliers* (que pueden de algún modo distorsionar los resultados). Se analizó la existencia de casos missing. Se procedió a la comprobación de determinados supuestos requeridos en la aplicación de gran parte de las técnicas que se emplearon en el análisis estadístico como son el supuesto de normalidad y el de homocedasticidad.

Se han considerado 2 formas de obtener información sobre la normalidad de distribución: gráficamente y mediante pruebas de normalidad. A su vez dentro de la opción gráfica se ha utilizado el diagrama de Caja con bigotes por ser estos los que mejor dan información sobre las poblaciones estudiadas. También histograma con curvas ROC. La segunda forma de comprobar la normalidad de una distribución se ha efectuado a través de un contraste de hipótesis. La hipótesis nula que se pone a prueba es que los datos proceden de una población con una distribución normal. El nivel de significado considerado para todos los análisis $\alpha = 0.05$.

Sin embargo, estos test se deben interpretar con cautela, pues si el número de casos de la muestra es muy grande bastará con una pequeña desviación de la normalidad para que el test arroje resultado significativo y se rechace la hipótesis de normalidad. Son unos test que se dejan influir mucho por el tamaño de la muestra, por este motivo es conveniente utilizar una combinación de enfoques para juzgar la adaptación de una variante a la normalidad. Una regla fácil de aplicar es la recomendación de Martínez-González y cols . “Se puede aceptar que una variable sigue una distribución normal si cumple los siguientes 3 requisitos”:

1º- Prácticamente el 100% de los valores deben de estar entre la media y 3 desviaciones estándar por encima y por debajo.

2º- La distribución debe de ser simétrica. La asimetría en valor absoluto debería de ser menor de 2 veces su error estándar.

3º- La distribución debe ser mesocúrtica. La curtosis en valor absoluto deberá de ser menor que 2 veces su error estándar”.

Por último, en la fase de **análisis de datos** propiamente dicha se aplicaron todas las técnicas estadísticas destinadas a dar respuesta a los propios objetivos de la investigación o a contrastar hipótesis que se plantearon. El tratamiento estadístico se ha efectuado con el programa SPSSP 20 para Windows.

Para el **análisis bivariante** o cuando se realizó un contraste de **hipótesis paramétrico** dado que es requisito indispensable tener algún conocimiento sobre como son las poblaciones objeto de la inferencia, habitualmente las características de los datos (nivel de medida, independencia...) o la forma en como se distribuyen en las poblaciones (normalidad...) se comprobó previamente la igualdad de varianzas o la normalidad de la distribución de la variable en cuestión.

En definitiva el análisis estadístico realizado consta de una parte descriptiva y otra inferencial.

A) Se ha utilizado una **estadística descriptiva**: se calcularon las frecuencias y los porcentajes para variables cualitativas y las medias, desviaciones estándar o típica, valores máximos y mínimos para las mediciones cuantitativas. Cuando las variables analizadas tenían desviaciones elevadas, se incluyó el cálculo de otras medidas de

tendencia central, como la mediana o modas y estimadores robustos. La realización de estos análisis se hizo de toda la muestra y también diferenciando por grupo de estudio.

Se realizó el cálculo de confianza del 95% tanto para medias como proporciones.

B) Se utilizaron pruebas **estadística inferenciales** : para las comparaciones entre variables se utilizó el análisis bivariante. Se compararon las puntuaciones de cada variable dependiente con las variables independientes mediante métodos estadísticos paramétricos, y no paramétricos cuando no se cumplían los criterios de aplicación de dicho análisis. Todos los resultados se consideraron significativos estadísticamente a $p < 0.05$.

B1) En el caso de que las variables siguieran una distribución normal se describió una o varias de las técnicas siguientes:

- Si las variables que se querían relacionar eran ambas de tipo numérico, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson y/o regresión lineal entre variables cuantitativas, para conocer el grado de asociación lineal entre ellas tras la comprobación de los supuestos de normalidad. En el caso de que no se cumpliera dicho supuesto se utilizó el coeficiente de Spearman que es más robusto y no se ve afectado por la existencia de valores alejados.
- Si una variable era de tipo cuantitativo y la otra de categórica, para la comprobación de las medias con una variable dicotómica se utilizó la prueba estadística t de Student. En el caso de que la variable cualitativa tenía más de 2 categorías se utilizó el análisis de la varianza de una vía (ANOVA). Previamente se comprobó el supuesto de normalidad de la forma que se ha mencionado anteriormente.

B2) En el caso de que la variable no siguiera una distribución normal

- Si las variables a relacionar eran ambas numéricas, el test que se aplicó fue la correlación de Spearman.
- Si una variable era cuantitativa y otra cualitativa el test a aplicar fue el test U de Mann-Whitney cuando la variable cualitativa tenía 2 niveles, y el test de Kruskal-Wallis si la medición cualitativa estaba tomada entre 3 niveles o más.
- Si ambas variables eran de tipo categórico, no se comprobó la normalidad, y se realizó una tabulación cruzada (tablas contingencia) empleando el estadístico chi-

cuadrado de Pearson para contrastar hipótesis independientes (en tabla $r \times s$) o el test de Fisher (en tablas 2×2). Se realizó un análisis de residuos tipificados y corregidos con la finalidad de interpretar el significado de la asociación detectada. Los residuos son la diferencia entre la frecuencia observadas y esperadas de cada casilla. Los residuos tipificados y corregidos se interpretaron como una variable estandarizada con distribución normal, esto quiere decir que un residuo con un valor superior a ± 1.96 indicaba que había una correlación entre ambas categorías (de las 2 variables nominales) a un nivel de confianza del 95% y un valor superior a ± 2.58 indicaba que había una relación entre las 2 categorías (de las 2 variables nominales) a un nivel de confianza del 99%. Cuanto mayor es el nivel de residuo mayor es la relación. El signo \pm indica la dirección negativo o positiva de la relación. Básicamente, el análisis de los resultados utiliza la idea de la chi-cuadrado para estudiar de una forma más pormenorizada la tabla de contingencia: en lugar de ver si las 2 variables están correlacionadas estudiamos la relación entre cada pareja de categorías. Como se suele trabajar con un nivel de confianza del 95% basta con fijarse en los residuos mayores o menores de 1.96. Lo que viene a decir el residuo es la proporción de la “fila” encontrada (en la casilla donde está el residuo) es significativamente mayor (o menor) de lo que pronostica la hipótesis nula de independencia (ausencia de relación entre las variables).

Siguiendo esta metodología se realizó un análisis descriptivo con componentes analíticos y análisis bivariante para estudio del comportamiento de diferentes parámetros a estudio en los fluidos analizados (líquido pericárdico y suero).

De forma complementaria se realiza análisis del comportamiento de la variable “grupo diagnóstico en relación a la causa de muerte” a partir de la variable marcadores específicos de sufrimiento cerebral (comparación de las medias entre los cuatro grupos) necesario para discriminar que parámetro es más representativo de la lesión. Para ello se incluye así mismo el análisis del comportamiento de la variable “grupo diagnóstico en relación a la causa de muerte” a partir de la variable “grado de afectación o intensidad de las lesiones macroscópicas” (comparación entre medias entre los cuatro grupos).

Para el *análisis bivariante* y para el *contraste de hipótesis* se analizó previamente la homogeneidad de varianzas (homocedasticidad), y la normalidad de la distribución de las variables en cuestión.

Para ello se comprobó que:

- 1) La variable dependiente fuese cuantitativa (numérica).
- 2) La variable independiente, variable de agrupación fuese cualitativa (categórica).
- 3) Normalidad en la distribución de las variables: aunque suele decirse que el requisito es que los datos de la variable dependiente siga una distribución normal o de Gauss, lo realmente importante es que la distribución de los resultados se aproximen a una normal. (Los residuales son la diferencia entre cada valor individual y la media de su grupo, es decir, cada uno de los elementos que se elevan al cuadrado para construir la suma de cuadrados residual)
- 4) Correlación bivarianda de Spearman: En este análisis se han utilizado variables cuantitativas y cualitativas seleccionadas para este estudio con el objetivo de ver las correlaciones existentes entre las distintas variables.
- 5) En quinto lugar se ha realizado un modelo paso a paso de regresión para establecer el porcentaje de la variable dependiente explicado por el resto de las variables.
- 6) Análisis discriminante: Se basa en la aplicación de diferentes variables principales seleccionadas. El objetivo de este análisis ha sido establecer la capacidad de seleccionar una variable definida en varias categorías en relación con la función discriminante obtenida en la aplicación del modelo de análisis paso a paso.

Antes de exponer los resultados obtenidos, presentamos una tabla resumen con los parámetros utilizados para el análisis estadístico. La denominación y códigos de cada una de las variables estudiadas, así como las unidades de los marcadores bioquímicos analizados (Tabla 9):

Tabla 9. Denominación, códigos y unidades de cada una de las variables estudiadas.

Código	Descripción	Unidades
Data	Intervalo <i>post mortem</i>	Horas
Edad		Años
Sexo	1. Hombre 2. Mujer	
GRUPO 1 DE CAUSA DIAG.	Causa de Muerte 1. Asfixias por ahorcadura 2. Infarto de Miocardio 3. Asfixia por sumersión 4. Traumatismos 5. Otras Muertes naturales	
GRUPO 2 DE CAUSA DIAG.	Etiología de la muerte 1. Natural 2. Suicida 3. Accidental	
GRUPO 3 DE CAUSA DIAG.	1. Asfixia 2. Infarto de miocardio 3. Traumatismo 4. Natural	
Infarto	Infarto de miocardio 1. No 2. Si	
Ahorcado	Asfixia ahorcamiento 1. No 2. Si	
Sumersión	Asfixia ahogamiento 1. No 2. Si	
Otras causas	Muerte natural 1. No 2. Si	
Infartraum	Infarto de miocardio y/o traumatismo torácico 1. No infarto, no trauma 2. Si infarto y/o trauma	
LST	Liperoxidación en tercio superior del tabique interventricular	nmol/g
LSVD	Liperoxidación en zona superior del ventrículo derecho	nmol/g
LSVIL	Liperoxidación en zona superolateral del ventrículo izquierdo	nmol/g
LSVIA	Liperoxidación en zona superoanterior del ventrículo izquierdo	nmol/g
LSVIP	Liperoxidación en zona superoposterior del ventrículo izquierdo	nmol/g
LIVIP	Liperoxidación en zona inferoposterior del ventrículo izquierdo	nmol/g
LIT	Liperoxidación en tercio inferior del tabique interventricular	nmol/g
LIVIA	Liperoxidación en zona inferoanterior del ventrículo izquierdo	nmol/g
LIVIL	Liperoxidación en zona inferolateral del ventrículo izquierdo	nmol/g

MATERIAL Y MÉTODOS

LIVD	Lipoperoxidación en zona inferior del ventrículo derecho	nmol/g
LA	Lipoperoxidación en ápex	nmol/g
PEROXMED	Peroxidación media	nmol/g
CKMBS	CK-MB en suero	ng/mL
MIOGS	Mioglobina en suero	ng/mL
TROPOS	Troponina cardíaca I (cTnI) en suero	ng/mL
CKMBLP	CK-MB en líquido pericárdico	ng/mL
MIOGLP	Mioglobina en líquido pericárdico	ng/mL
TROPOLP	Troponina cardíaca I (cTnI) en líquido pericárdico	ng/mL
Rcp	Resucitación cardio-pulmonar 1. No 2. Si	
traumat	Traumatismo torácico 1. No 2. Si	
iszmbpj	Porcentaje de isoenzima MB calculada por electroforesis, en suero	%
pormb2s	Porcentaje de isoforma MB2 sobre la isoenzima MB total, en suero	%
mb2mb1s	Relación MB2/MB, en suero, calculada sobre la isoenzima MB	%
iezmm3sp	Porcentaje de isoforma MM3, sobre el total de isoenzimas en suero	%
iezmm2sp	Porcentaje de isoforma MM2, sobre el total de isoenzimas en suero	%
iezmm1sp	Porcentaje de isoforma MM" sobre el total de isoenzimas en suero	%
iezmb2sp	Porcentaje de isoforma MB2, sobre el total de isoenzimas en suero	%
iezmb1sp	Porcentaje de isoforma MB" sobre el total de isoenzimas en suero	%
mm3mm1s	Relación MMslMM, en suero, calculada sobre el total de isoenzimas	%
mb2mb1ps	Relación MB2/MB, en suero, calculada sobre el total de isoenzimas	%
isfmb1pp	Porcentaje de isoenzima MB calculada por electroforesis, en líquido pericárdico	%
pormb2lp	Porcentaje de isoforma MB2 sobre la isoenzima MB total, en líquido pericárdico	%
mb2mb1lp	Relación MB2/MB, en líquido pericárdico, calculada sobre la isoenzima MB	%
iezmm3lp	Porcentaje de isoforma MM3, sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico	%
iezmm2lp	Porcentaje de isoforma MM2, sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico	%
iezmm1lp	Porcentaje de isoforma MM" sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico	%
iezmb2lp	Porcentaje de isoforma MB2, sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico	%
iezmb1lp	Porcentaje de isoforma MB" sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico	%
mm3mm1lp	Relación MM;yIMM, en líquido pericárdico, calculada sobre el total de isoenzimas	
mb2mb1pl	Relación MB2/MB, en líquido pericárdico, calculada sobre el total de isoenzimas	
mm3mb2s	Relación isoforma MM e IMB2 en sangre periférica	

mm3mb2p	Relación soforma MM e IMB2 en líquido pericárdico	
mb2peric	Concentración de la isoforma MB2 en líquido pericárdico	ng/mL
mb2suero	Concentración de la isoforma MB2 en sangre periférica	ng/mL
Creatinin- Kinasa Suero (CKmbs)		U/L
Mioglobina Suero (mios)		ng/mL
Troponina Suero (Tropos)		ng//mL
CreatininKinasa (CKMBlp)		ng/mL
Mioglobina líquido pericárdico(mioglp)		ng/mL
Troponina líquido pericardico(tropolp)		ng/mL
Fibrosis -Tabique (fibrost) -Ventrículo (fibrovil)	0. Ausencia 1.Pericelular 2.Difusa (focal, septal y perivascular) 3. Perivascular.	
Fibrosis	0. No 1. Si	
Edema -Tabique(edest) -Ventrículo (edevil)	0. Ausencia 1. Homogenización citoplasma 2. Aislada o focal 3. Frecuentes y Masiva	
Necrosis -Tabique (necrost) -Ventrículo (necrovil)	0. No 1. Si	
Vacuolas -Tabique (vacst) -Ventrículo (vacvil)	0.Ausencia 1. Ocasionales 2.Frecuentes masivas	
Bandas de contracción Tabique (contst) Ventrículo (contvil)	0.Ausencia 1.Focales 2.Masivas	
Bandas decontracción (contract)	0. No 1. Si	
Hemorragia -Tabique (hrragst) -Ventrículo (hrragvil)	1.Ausencia 2.Congestión 3.Focal 4. Masiva	
Hemorragia (hrrgia)	0. No 1. Si	
Inflamación Tabique (inflst) Ventrículo (inflvil)	1.Linfocitos 2. Focal de polinucleares neutrofilos (PMN-N) 3.Masiva de PMN-N.	
Inflamación (infiltra)	0. No 1. Si	
Alteraciones nucleares -Tabique (nuclst) -Ventrículo(nuclvil)	0.Ausencia 1.Normal 2. Hiper Cromáticos	

MATERIAL Y MÉTODOS

	3.Pleomórficos e hipercromáticos 5.Picnosis
Alteraciones nucleares	0. No 1. Si
Troponina T -Tabique (ctntst) -Ventriculo (ctntvil)	0.Ausencia 1.1+ 2.2+ 3. 3+
Troponina C -Tabique (ctncst) -Ventriculo (ctncvil)	0.Ausencia 1. 1+ 2. 2+ 3. 3+
Naranja de acridina (na)	0. Ausencia 1. Presencia

La tabla se completa con 124 parámetros más. Uno para cada marcador utilizado sobre cortes histológicos de tejido cardíacos. PARP1, Nogo-A, cTnT y cTnI, para cada una de las 10 áreas estudiadas tanto para intensidad como por extensión de la inmunotinción [4 marcadores X 10 áreas X 2 (intensidad y extensión)= 80 parámetros] y otros tantos valores transformados, calculados mediante la fórmula: valor intensidad x valor de extensión de la inmunotinción de casa uno de ellos (40 parámetros) y medias de suma de ellos (4 parámetros). Además de 10 parámetros extraídos del análisis óptico con estudios morfológicos). Las muestras de técnicas inmunohistoquímicas fueron valoradas de manera semicuantitativa y además la expresión de Nogo-A, cTnT y cTnI se valoraron con el software automático de análisis de imageJ. De forma que a esos 124 se le añadieron 33 más siendo la suma de ambos 157 parámetros adicionales.

Para el estudio de los marcadores inmunohistoquímicos (Nogo-A, cTnT y cTnI) se amplió el número con las muestras procedentes del Departamento de Medicina Legal de la Universidad de Granada) siendo el número total de casos estudiados para dichos marcadores de 188, a los que hay que restar la pérdida de 18 casos. La distribución por sexo para los 170 casos fue 144 hombres y 26 mujeres.

5.5. Afirmación explícita del cumplimiento de las normas éticas y legales.

La presente investigación se ha realizado bajo el compromiso del cumplimiento de las normas éticas de investigación y de los requerimientos legales imprescindibles para llevar a cabo dichos estudios. Se ha respetado en todo momento la normativa vigente, que garantiza la confidencialidad de los datos de carácter personal y su tratamiento automatizado de acuerdo con la legislación sobre protección de datos de carácter personal (ley Orgánica 15/99 de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal, el Real Decreto 994/1999 de 11 de junio por el que se aprueba el reglamento de medidas de seguridad de ficheros automatizados que contengan datos de carácter personal, así como toda la normativa aplicable a esta materia).

Las Muestras tuvieron la aprobación de la Comisión Ética en Investigación de la Universidad de Granada (Informe 700 del comité de investigación humana, de 21 de mayo 2012).

7. RESULTADOS

RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO

Características de la serie formada por 92 muestras de corazones de cadáveres autopsiados procedentes de 66 hombres y 26 mujeres con edades comprendidas entre 12 y 87 años (edad media de 50.33 ± 18.78) (la tabla de contingencia por edades detalla en la número 10). La media de edad en la serie total (incluyendo las muestras de las Universidades de Murcia y Granada fue de 55.12 ± 19.19 (Tabla 11), 85% hombres y 15% mujeres. La distribución poblacional cuando el análisis se realizó sobre el total de la población a estudio de 188 pacientes se representa en las tablas 11 y 12 y figura 19.

Tabla 10.Descriptivos Edad (Muestras procedentes de la Universidad de Murcia				
		Estadística	Error Std.	
Edad	Media	50.33	1.991	
	95% Intervalo confianza para la media	Nivel bajo	46.37	
		Nivel alto	54.28	
	Mediana	50.00		
	Varianza	352.88		
	Desviación Std.	18.785		
	Mínimo	12		
	Máximo	87		
	Rango	75		
	Curtosis	-1.113	.506	

Tabla 11.Descriptivos Edad (población Total Universidades de Murcia y Granada)				
		Estadístico	Error típ.	
Edad	Media	55.12	1.472	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	52.21	
		Límite superior	58.02	
	Media recortada al 5%	55.41		
	Mediana	57.00		
	Varianza	368.353		
	Desv. típ.	19.193		
	Mínimo	2		
	Máximo	95		
	Rango	93		
	Curtosis	-.690	.370	

Tabla 12. Análisis descriptivo en función del sexo					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Hombre	144	76.6	84.7	84.7
	Mujer	26	13.8	15.3	100.0
	Total	170	90.4	100.0	
Perdidos	Sistema	18	9.6		
Total		188	100.0		

Figura 19. Distribución por sexo de la serie.



La serie de casos se estratificó de 3 formas diferentes para llevar a cabo el estudio estadístico. Las muestras se agruparon en función del diagnóstico, como a continuación se describe:

- GRUPO 1 DE CAUSAS DIAGNÓSTICAS.-En función del diagnóstico de muerte agrupados en 5 causas:
 - o 1. Asfixias por ahorcadura
 - o 2. Infarto de Miocardio
 - o 3. Asfixia por sumersión
 - o 4. Traumatismos
 - o 5. Otras causas muertes naturales
- GRUPO 2 DE CAUSAS DIAGNÓSTICAS.- Según se haya producido el origen de la muerte agrupados en 3 causas:
 - o 1. Natural
 - o 2. Suicida
 - o 3. Accidental
- GRUPO 3 DE CAUSAS DIAGNÓSTICAS.-Según se haya producido el origen de la muerte agrupados en 4 causas, uniendo los dos tipos de asfixia en un único subgrupo:
 - o 1. Infarto de Miocardio
 - o 2. Traumatismos
 - o 3. Asfixia
 - o 4. Otras causas muertes naturales

La descripción de la distribución poblacional se encuentra en las tablas 13,14 y 15, así como en las figuras 20, 21 y 22.

RESULTADOS

Tabla 13. Distribución de la serie según criterios de agrupación (GRUPO CAUSAS DIAGNÓSTICAS 1)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Asfixia por ahorcadura	28	14.9	16.2	16.2
	Infarto de miocardio	50	26.6	28.9	45.1
	Asfixia por sumersión	16	8.5	9.2	54.3
	Traumatismo	36	19.1	20.8	75.1
	Otras causas de muerte natural	43	22.9	24.9	100.0
	Total	173	92.0	100.0	
Perdidos	Sistema	15	8.0		
Total		188	100.0		

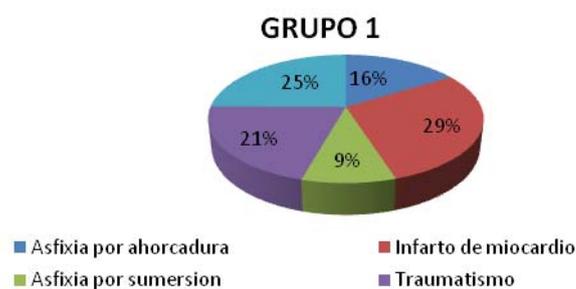


Figura 20. Distribución de la serie según criterios de agrupación (GRUPO 1 DE CAUSAS DIAGNÓSTICAS).

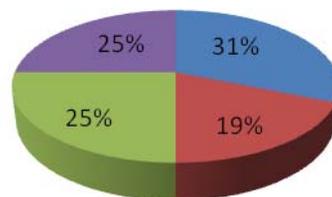
Tabla 14. Distribución de la serie según criterios de agrupación (GRUPO CAUSAS DIAGNÓSTICAS 2)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Natural	33	17.6	36.3	36.3
	Suicida	18	9.6	19.8	56.0
	Accidental	40	21.3	44.0	100.0
	Total	91	48.4	100.0	
Perdidos	Sistema	97	51.6		
Total		188	100.0		



Figura 21. Distribución de la serie según criterios de agrupación (GRUPO 2 DE CAUSAS DIAGNÓSTICAS).

Tabla 15. Distribución de la serie según criterios de agrupación (GRUPO CAUSAS DIAGNÓSTICAS 3)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Infarto	20	10.6	31.3	31.3
	Traumatismo	12	6.4	18.8	50.0
	Asfixia	16	8.5	25.0	75.0
	Otras causas muerte	16	8.5	25.0	100.0
	Total	64	34.0	100.0	
Perdidos	Sistema	124	66.0		
Total		188	100.0		

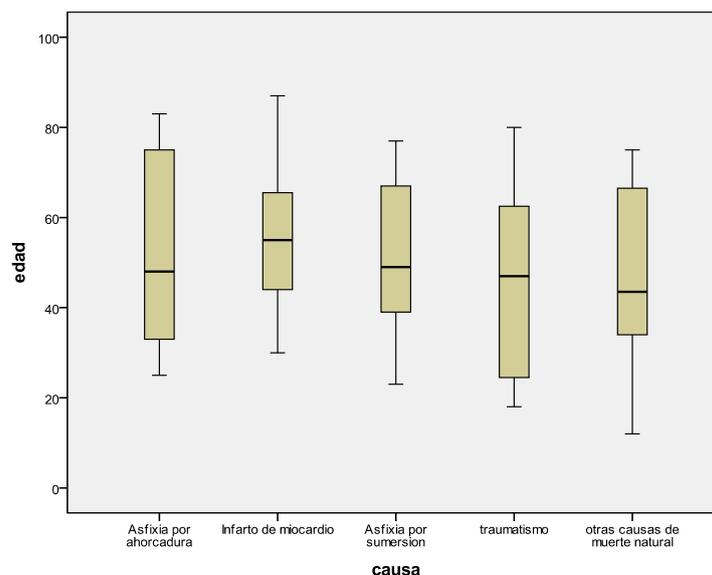
GRUPO 3



■ Infarto ■ Traumatismo ■ Asfixia ■ Otras causas muerte

Figura 22. Distribución de la serie según criterios de agrupación (GRUPO 3 DE CAUSAS DIAGNÓSTICAS).

Figura 23. Distribución de causas diagnósticas por edad.



Las muestras fueron tomadas antes de transcurrir 24 horas de producirse la muerte. El intervalo *post mortem* (IPM) medio fue de 7.48 ± 4.16 horas, rango [2-18 horas] con una distribución según causa que se especifican en Tablas 16a y 16b).

RESULTADOS

Tabla 16a. Estudio descriptivo del intervalo <i>post mortem</i> según la causa de la muerte.					
Causa				Estadístico	Error típ.
Data (horas <i>post mortem</i>)	Asfixia por ahorcadura	Media		7.63	2.087
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	2.69	
			Límite superior	12.56	
		Mediana		5.00	
		Varianza		34.839	
		Desv. típ.		5.902	
		Mínimo		3	
		Máximo		18	
		Rango		15	
		Curtosis		.063	1.481
			Infarto de miocardio	Media	
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior			5.04	
	Límite superior			8.56	
Mediana				6.50	
Varianza				14.168	
Desv. típ.				3.764	
Mínimo				2	
Máximo				13	
Rango				11	
Curtosis				-1.517	.992
	Asfixia por sumersión			Media	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	5.57	
			Límite superior	12.20	
		Mediana		7.00	
		Varianza		18.611	
		Desv. típ.		4.314	
		Mínimo		4	
		Máximo		15	
		Rango		11	
		Curtosis		-1.978	1.400

Tabla 16b. Estudio descriptivo del intervalo <i>post mortem</i> según la causa de la muerte (continuación)							
Causa				Estadístico	Error típ.		
Data (horas <i>post mortem</i>)	traumatismo	Media		7.14	.823		
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	5.43			
			Límite superior	8.86			
		Mediana		6.00			
		Varianza		14.229			
		Desv. típ.		3.772			
		Mínimo		2			
		Máximo		13			
		Rango		11			
		Curtosis		-1.401	.972		
		otras causas de muerte natural		Media		7.32	.961
				Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	5.30	
					Límite superior	9.34	
Mediana				7.00			
Varianza				17.561			
Desv. típ.				4.191			
Mínimo				3			
Máximo				16			
Rango				13			
Curtosis				-.689	1.014		

Para el análisis estadístico las muertes la distribución por “GRUPO 1” se estratificó en 5 grupos que incluían los siguientes diagnósticos:

- Grupo 1.- Asfixias por ahorcamiento.- Se introdujeron en este ítem todos los casos de asfixias mecánicas por ahorcadura y asfixias por sofocación.
- Grupo 2.- IM- (Muerte súbita cardíaca, trombosis coronaria, Scaest.IM, arritmia).
- Grupo 3 - Asfixias por ahogamiento.- Sumersión
- Grupo 4- Traumatismos.- Traumatismos craneoencefálicos, politraumatizados, atropellos, caídas.
- Grupo 5 - Otras causas de muerte natural.- Tromboembolia pulmonar, shock , edema agudo de pulmón, hipovolémico, hemorragia subaracnoidea espontanea, crisis asmática, neumonías, rotura de disección de aorta, anafilaxia, intoxicaciones, CO, paracetamol... shock séptico, reacción adversa a drogas; miocardiopatía dilatada.

Tras la depuración estadística de los casos perdidos, el número de casos estudiados son detallados en la Tabla 17:

Tabla 17	Casos	% de casos
Asfixia por ahorcadura	27	15.9
Infarto de miocardio	49	28.9
Asfixia por sumersión	15	8.8
Traumatismo	36	21.2
otras causas de muerte natural	43	25.2
TOTAL	170	100

Para facilitar la lectura de los resultados se ha ordenado la exposición de datos estadísticos descriptivos y analíticos en tres apartados en función del tipo de muestra estudiada.

- Estadística con los valores de los marcadores séricos.
- Estadística con los valores de peroxidación lipídica en tejido cardíaco.
- Estadística con los valores de los marcadores inmunohistoquímicos en tejido cardíaco.

RESULTADOS DEL ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS NIVELES DE ISOENZIMAS, ISOFORMAS Y MARCADORES SEROLÓGICOS CARDÍACOS

El análisis descriptivo de los niveles de expresión de enzimas e isoformas en suero y líquido pericárdico se describen en las tablas 18a, b, c, d, e y f.

Tablas 18a. Descriptivos de expresión de isoformas enzimáticas en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
isoforma MB spj	Asfixia por ahorcadura	8	3.26	3.13	1.11	0.50	10.20
	Infarto de miocardio	15	3.53	3.00	0.78	0.90	10.70
	Asfixia por sumersión	6	1.37	0.95	0.39	0.40	2.90
	Traumatismo	15	6.38	7.40	1.91	0.40	23.40
	Otras causas de muerte natural	15	3.90	5.63	1.45	0.40	23.40
	Total	59	4.09	5.16	0.67	0.40	23.40
isoforma MB2s	Asfixia por ahorcadura	8	129.22	220.45	77.94	1.45	654.86
	Infarto de miocardio	16	126.38	223.27	55.82	8.26	911.18
	Asfixia por sumersión	6	14.19	8.24	3.36	3.17	22.32
	Traumatismo	15	452.90	926.98	239.34	15.31	3425.75
	Otras causas de muerte natural	16	300.83	749.18	187.29	1.61	3015.56
	Total	61	241.77	617.62	79.08	1.45	3425.75
isoforma MB1s	Asfixia por ahorcadura	8	25.36	37.06	13.10	0.85	109.14
	Infarto de miocardio	16	22.69	33.30	8.33	0.12	116.82
	Asfixia por sumersión	6	7.47	7.42	3.03	2.43	21.95
	Traumatismo	15	112.21	305.38	78.85	0.95	1206.25
	Otras causas de muerte natural	16	55.41	138.46	34.61	0.69	558.44
	Total	61	52.14	168.60	21.59	0.12	1206.25
isoforma MB2sb	Asfixia por ahorcadura	8	77.44	9.38	3.32	62.96	87.18
	Infarto de miocardio	16	80.04	17.31	4.33	41.18	99.01
	Asfixia por sumersión	6	67.32	12.37	5.05	47.37	77.78
	Traumatismo	15	84.97	8.23	2.12	72.90	97.60
	Otras causas de muerte natural	16	78.77	13.76	3.44	41.18	93.98
	Total	61	79.32	13.57	1.74	41.18	99.01
isoforma MB1s	Asfixia por ahorcadura	8	22.56	9.38	3.32	12.82	37.04
	Infarto de miocardio	16	19.97	17.31	4.33	0.99	58.82
	Asfixia por sumersión	6	32.68	12.37	5.05	22.22	52.63
	Traumatismo	15	15.03	8.23	2.12	2.40	27.10
	Otras causas de muerte natural	16	21.24	13.76	3.44	6.02	58.82
	Total	61	20.68	13.57	1.74	0.99	58.82

RESULTADOS

Tablas 18b. Descriptivos de expresión de isoformas enzimáticas en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
isoforma MB2mb1s	Asfixia por ahorcadura	8	4.13	1.97	0.70	1.70	6.80
	Infarto de miocardio	16	18.52	32.44	8.11	0.70	100.00
	Asfixia por sumersión	6	2.38	1.04	0.42	0.90	3.50
	Traumatismo	15	9.43	9.79	2.53	2.69	40.66
	Otras causas de muerte natural	16	5.64	3.97	0.99	0.70	15.60
	Total	61	9.43	18.02	2.31	0.70	100.00
isoenzima mm 2sp	Asfixia por ahorcadura	8	65.93	12.69	4.49	35.70	73.50
	Infarto de miocardio	17	58.61	27.72	6.72	2.90	87.60
	Asfixia por sumersión	8	55.40	30.77	10.88	3.30	78.10
	Traumatismo	15	57.67	25.85	6.67	2.90	81.50
	Otras causas de muerte natural	16	61.64	19.89	4.97	15.60	84.10
	Total	64	59.66	23.88	2.99	2.90	87.60
isoenzima mm 2sp	Asfixia por ahorcadura	8	18.18	11.45	4.05	10.50	45.50
	Infarto de miocardio	17	16.77	9.46	2.29	5.20	40.00
	Asfixia por sumersión	8	25.94	23.07	8.16	7.20	65.30
	Traumatismo	15	18.49	15.13	3.91	5.10	60.90
	Otras causas de muerte natural	16	20.24	13.60	3.40	8.30	58.80
	Total	64	19.36	14.11	1.76	5.10	65.30
isoenzima mm 1sp	Asfixia por ahorcadura	8	12.66	4.82	1.71	6.10	19.60
	Infarto de miocardio	17	15.91	17.24	4.18	3.80	78.50
	Asfixia por sumersión	8	17.69	9.09	3.21	8.70	32.50
	Traumatismo	15	13.63	7.00	1.81	5.50	25.80
	Otras causas de muerte natural	16	12.81	9.50	2.38	3.50	43.70
	Total	64	14.42	11.08	1.39	3.50	78.50
isoenzima mm 2sp	Asfixia por ahorcadura	8	2.73	3.09	1.09	0.30	9.60
	Infarto de miocardio	16	5.44	10.67	2.67	0.70	44.70
	Asfixia por sumersión	6	1.07	0.86	0.35	0.30	2.60
	Traumatismo	15	3.43	3.27	0.84	0.20	11.20
	Otras causas de muerte natural	16	3.33	3.76	0.94	0.20	14.30
	Total	61	3.60	6.11	0.78	0.20	44.70
isoenzima mm 1sp	Asfixia por ahorcadura	8	0.54	0.37	0.13	0.20	1.30
	Infarto de miocardio	15	0.71	0.98	0.25	0.10	3.70
	Asfixia por sumersión	6	0.30	0.22	0.09	0.00	0.60
	Traumatismo	15	2.95	5.72	1.48	0.10	19.40
	Otras causas de muerte natural	15	1.31	3.44	0.89	0.10	13.70
	Total	64	14.42	11.08	1.39	3.50	78.50

Tablas 18c. Descriptivos de expresión de isoformas enzimáticas en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
isoenzima mm 3mm1s	Asfixia por ahorcadura	8	6.30	3.61	1.28	2.40	11.90
	Infarto de miocardio	17	7.02	6.25	1.52	0.10	21.60
	Asfixia por sumersión	7	4.96	2.41	0.91	0.10	7.30
	Traumatismo	15	6.19	4.62	1.19	0.10	14.80
	Otras causas de muerte natural	16	7.63	6.09	1.52	0.60	24.10
	Total	63	6.65	5.16	0.65	0.10	24.10
isoenzima mm 2mb1ps	Asfixia por ahorcadura	8	5.91	5.33	1.88	0.20	16.50
	Infarto de miocardio	15	6.47	3.65	0.94	1.90	16.00
	Asfixia por sumersión	6	5.78	5.13	2.09	1.20	14.00
	Traumatismo	15	4.51	3.12	0.81	0.10	9.90
	Otras causas de muerte natural	15	6.15	7.20	1.86	0.40	30.70
	Total	59	5.75	4.93	0.64	0.10	30.70
isoenzima mm mbp	Asfixia por ahorcadura	7	10.63	8.12	3.07	1.10	25.10
	Infarto de miocardio	18	9.68	5.10	1.20	3.00	17.20
	Asfixia por sumersión	7	7.74	5.24	1.98	3.70	19.10
	Traumatismo	13	13.91	18.43	5.11	2.50	73.10
	Otras causas de muerte natural	14	10.42	5.75	1.54	4.30	19.40
	Total	59	10.67	9.93	1.29	1.10	73.10
isoforma MB mb2lp	Asfixia por ahorcadura	7	78.66	101.47	38.35	0.19	281.27
	Infarto de miocardio	18	1285.54	2867.78	675.94	13.89	10400.21
	Asfixia por sumersión	8	26.54	22.93	8.11	0.00	61.75
	Traumatismo	15	498.74	1075.21	277.62	0.00	4031.64
	Otras causas de muerte natural	14	90.62	116.02	31.01	4.16	426.47
	Total	62	526.65	1682.51	213.68	0.00	10400.21
isoforma MB mb 1 lp	Asfixia por ahorcadura	7	10.62	14.84	5.61	0.06	39.61
	Infarto de miocardio	18	459.71	1393.32	328.41	2.01	5850.43
	Asfixia por sumersión	8	4.13	3.18	1.13	0.00	10.65
	Traumatismo	15	38.82	73.04	18.86	0.00	280.36
	Otras causas de muerte natural	14	14.82	21.01	5.62	1.38	73.53
	Total	62	147.93	763.50	96.96	0.00	5850.43

RESULTADOS

Tablas 18d. Descriptivos de expresión de isoformas enzimáticas en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
isoforma MB por mb1 lp	Asfixia por ahorcadura	7	18.77	11.93	4.51	2.34	37.04
	Infarto de miocardio	18	17.01	11.33	2.67	2.79	43.48
	Asfixia por sumersión	7	15.59	5.42	2.05	4.39	20.83
	Traumatismo	13	15.73	19.69	5.46	2.40	76.92
	Otras causas de muerte natural	14	15.41	8.04	2.15	4.40	37.04
	Total	59	16.39	12.30	1.60	2.34	76.92
isoforma MB por mb2lp	Asfixia por ahorcadura	7	81.23	11.93	4.51	62.96	97.66
	Infarto de miocardio	18	82.99	11.33	2.67	56.52	97.21
	Asfixia por sumersión	7	84.41	5.42	2.05	79.17	95.61
	Traumatismo	13	84.27	19.69	5.46	23.08	97.60
	Otras causas de muerte natural	14	84.59	8.04	2.15	62.96	95.60
	Total	59	83.61	12.30	1.60	23.08	97.66
isoforma MB2mb1 lp	Asfixia por ahorcadura	7	9.81	14.24	5.38	1.70	41.80
	Infarto de miocardio	18	7.99	7.61	1.79	1.30	34.80
	Asfixia por sumersión	7	7.24	6.46	2.44	3.80	21.80
	Traumatismo	14	12.19	11.52	3.08	0.30	40.66
	Otras causas de muerte natural	14	7.30	4.86	1.30	1.70	21.72
	Total	60	8.93	8.93	1.15	0.30	41.80
isoenzima MM 3lp	Asfixia por ahorcadura	8	63.58	19.39	6.86	18.50	79.40
	Infarto de miocardio	18	69.51	7.40	1.74	57.90	84.30
	Asfixia por sumersión	8	64.98	26.82	9.48	9.60	87.50
	Traumatismo	15	53.11	27.82	7.18	3.60	83.50
	Otras causas de muerte natural	15	67.75	10.91	2.82	45.20	83.60
	Total	64	63.94	19.37	2.42	3.60	87.50
isoenzima MM 2lp	Asfixia por ahorcadura	8	18.80	21.88	7.73	7.70	72.70
	Infarto de miocardio	18	11.09	4.09	0.96	3.40	21.00
	Asfixia por sumersión	8	16.99	20.20	7.14	3.50	57.90
	Traumatismo	15	20.50	18.67	4.82	6.10	67.80
	Otras causas de muerte natural	15	12.03	8.51	2.20	2.70	32.70
	Total	64	15.22	14.58	1.82	2.70	72.70

Tabla 18e. Descriptivos de expresión de isoformas enzimáticas en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
isoenzima MM 1 lp	Asfixia por ahorcadura	8	8.49	3.42	1.21	4.90	16.20
	Infarto de miocardio	18	9.57	4.47	1.05	2.20	20.40
	Asfixia por sumersión	8	11.26	8.99	3.18	5.30	32.50
	Traumatismo	15	12.71	10.32	2.66	2.30	39.70
	Otras causas de muerte natural	15	9.29	4.27	1.10	0.70	17.60
	Total	64	10.31	6.76	0.85	0.70	39.70
isoenzima MB 2lp	Asfixia por ahorcadura	7	8.94	7.32	2.77	0.50	21.50
	Infarto de miocardio	18	8.16	4.44	1.05	2.60	14.50
	Asfixia por sumersión	7	6.31	3.72	1.40	3.20	14.10
	Traumatismo	14	8.80	6.43	1.72	1.90	24.90
	Otras causas de muerte natural	15	8.79	5.66	1.46	0.80	17.70
	Total	61	8.34	5.42	0.69	0.50	24.90
isoenzima MB 1 lp	Asfixia por ahorcadura	7	1.69	1.28	0.48	0.60	3.60
	Infarto de miocardio	18	1.52	1.13	0.27	0.40	4.20
	Asfixia por sumersión	7	1.43	1.61	0.61	0.50	5.00
	Traumatismo	13	6.35	16.86	4.68	0.40	62.20
	Otras causas de muerte natural	14	2.18	1.75	0.47	0.20	5.80
	Total	59	2.75	8.01	1.04	0.20	62.20
isoenzima MM 3mm 1lp	Asfixia por ahorcadura	8	8.48	3.98	1.41	2.10	13.70
	Infarto de miocardio	18	9.70	7.35	1.73	3.00	35.80
	Asfixia por sumersión	8	8.75	5.01	1.77	0.30	16.40
	Traumatismo	15	6.89	4.62	1.19	0.10	13.10
	Otras causas de muerte natural	15	15.19	26.53	6.85	3.10	109.10
	Total	64	10.06	13.77	1.72	0.10	109.10
isoforma MB 2mb1pl	Asfixia por ahorcadura	7	6.33	6.03	2.28	0.83	18.37
	Infarto de miocardio	18	7.02	5.29	1.25	1.79	20.71
	Asfixia por sumersión	7	6.15	3.11	1.18	2.82	12.17
	Traumatismo	13	6.55	5.30	1.47	0.18	16.50
	Otras causas de muerte natural	14	6.52	5.51	1.47	0.21	20.50
	Total	59	6.61	5.07	0.66	0.18	20.71

RESULTADOS

Tabla 18f. Descriptivos de expresión de enzimas e isoformas enzimáticas en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
mm3mb2p	Asfixia por ahorcadura	7	31.95	56.57	21.38	2.73	158.80
	Infarto de miocardio	18	12.59	8.75	2.06	4.18	32.42
	Asfixia por sumersión	7	14.81	8.55	3.23	4.68	27.34
	Traumatismo	14	12.56	12.91	3.45	0.20	43.95
	Otras causas de muerte natural	15	16.18	23.75	6.13	3.54	98.87
	Total	61	15.94	23.51	3.01	0.20	158.80
mm3mb2s	Asfixia por ahorcadura	8	84.37	94.95	33.57	7.63	239.33
	Infarto de miocardio	16	36.33	27.57	6.89	0.06	100.71
	Asfixia por sumersión	6	110.09	72.45	29.58	25.27	206.33
	Traumatismo	15	53.49	99.15	25.60	0.39	402.00
	Otras causas de muerte natural	16	69.08	100.37	25.09	1.97	356.50
	Total	61	62.69	83.64	10.71	0.06	402.00

iszmbpj	Porcentaje de isoenzima MB calculada por electroforesis.en suero
pomb2s	Porcentaje de isoforma MB2 sobre la isoenzima MB total.en suero
mb2mb1s	Relación MB2/MB.en suero.calculada sobre la isoenzima MB
iezmm3sp	Porcentaje de isoforma MM3.sobre el total de isoenzimas en suero
iezmm2sp	Porcentaje de isoforma MM2.sobre el total de isoenzimas en suero
iezmm1sp	Porcentaje de isoforma MM" sobre el total de isoenzimas en suero
iezmb2sp	Porcentaje de isoforma MB2.sobre el total de isoenzimas en suero
iezmb1sp	Porcentaje de isoforma MB" sobre el total de isoenzimas en suero
mm3mm1s	Relación MMslMM. en suero.calculada sobre el total de isoenzimas
mb2mb1ps	Relación MB2/MB.en suero.calculada sobre el total de isoenzimas
isfmb1pp	Porcentaje de isoenzima MB calculada por electroforesis.en líquido pericárdico
pomb2lp	Porcentaje de isoforma MB2 sobre la isoenzima MB total.en líquido pericárdico
mb2mb1lp	Relación MB2/MB.en líquido pericárdico. calculada sobre la isoenzima MB
iezmm3lp	Porcentaje de isoforma MM3.sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico
iezmm2lp	Porcentaje de isoforma MM2.sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico
iezmm1lp	Porcentaje de isoforma MM" sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico
iezmb2lp	Porcentaje de isoforma MB2.sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico
iezmb1lp	Porcentaje de isoforma MB" sobre el total de isoenzimas en líquido pericárdico
mm3mm1lp	Relación MM;yIMM.en líquido pericárdico.calculada sobre el total de isoenzimas
mb2mb1pl	Relación MB2/MB.en líquido pericárdico.calculada sobre el total de isoenzimas
mm3mb2s	Relación Isoforma MM;yIMB2 en sangre periférica
mm3mb2p	Relación Isoforma MM;yIMB2 en líquido pericárdico
mb2peric	Concentración de la isoforma MB2 en líquido pericárdico

- RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE ISOENZIMAS CARDÍACAS

Fueron comparadas las expresión de isoformas e isoenzimas en suero y líquido pericárdico en función de la causa de muerte encontrando diferencias estadísticamente significativas mediante la prueba de la χ^2 ($P=0.025$) para la isoforma MBmb2 en suero lo que permite diferenciar entre causa de muerte por asfixia por sumersión frente a traumatismo mediante comparaciones múltiples ($P=0.010$, test U de Mann-Whitney). En líquido pericárdico también los niveles de MBmb2 fueron estadísticamente significativos ($P=0.002$) permitiendo distinguir en las comparaciones múltiples entre la causa de muerte por infarto y la asfixia por sumersión ($P=0.004$) y por otras causas de muerte natural ($P=0.039$) (test U de Mann-Whitney) (tabla 20) (figura 24).

Idéntico resultado se obtuvo al evaluar la Isoforma de MBmb1 en Líquido pericárdico ($P=0.001$, test de K-W) que tras la corrección mediante la comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney permitió establecer diferencias significativas entre IM y muerte por asfixia por sumersión ($P=0.005$) y otras causas de muerte natural ($P=0.031$) (tabla 20).

La combinación de los niveles de expresión de isoformas cardíacas MBmb2s, MBmb2lp y MBmb1lp cuando se compararon en el GRUPO 1 de diagnóstico permite encontrar diferencias entre las muertes por asfixia por sumersión frente a IM y traumatismo; así como los IM frente a asfixias por sumersión y otras causas de muerte natural.

Cuando los valores de los niveles de expresión de isoenzimas se analizaron frente a GRUPO 2 de causas diagnósticas se obtuvieron los siguientes resultados estadísticamente significativos:

La isoforma MBmb2 en líquido pericárdico ($P=0.041$, test K-W) y la isoforma MBmb1 ($P=0.010$, test K-W) que alcanzaron diferencias significativas al comparar casusas de muerte natural frente a accidentales con ($P=0.028$, $P=0.004$, respectivamente, test U de Mann-Whitney).

RESULTADOS

Cuando los valores de los niveles de expresión de isoenzimas se analizaron frente a GRUPO 3 de causas diagnósticas se obtuvieron los siguientes resultados estadísticamente significativos:

La isoforma MBmb2 en suero ($P= 0.033$, test K-W) permitiendo diferenciar entre causa de muerte natural y traumática ($P=0.027$, test U de Mann-Whitney)

Figura 24. Niveles de expresión de la isoforma MB2 en función de la causa de muerte.

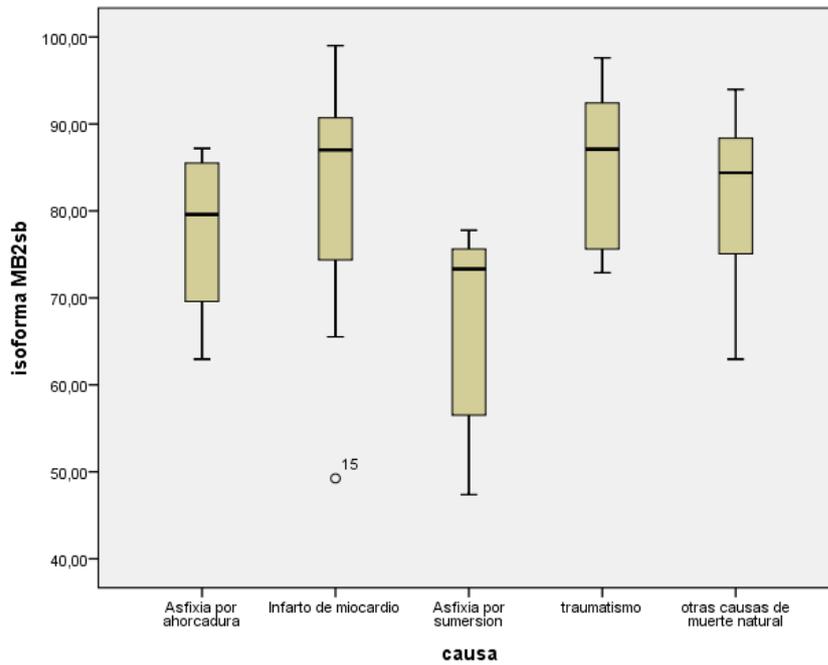


Tabla 19a. Comparación de la expresión de isoenzimas, isoformas enzimáticas y marcadores serológicos cardíacos para el GRUPO 1 de causas diagnósticas (Prueba de Kruskal-Wallis)

Variable	Chi-cuadrado	GI	Valor de P	Resultado
ckmbs	10.517	4	.033	SI
miogs	7.688	4	.104	NO
trops	8.010	4	.091	NO
ckmb1p	20.941	4	.000	SI
mioglp	7.546	4	.110	NO
trop1p	20.378	4	.000	SI
isoforma MB sij	5.755	4	.218	NO
isocora MB2s	11.155	4	.025	SI
isocora MB1s	3.016	4	.555	NO
isocora MB2sb	8.628	4	.071	NO
isocora MB1s	8.628	4	.071	NO
isocora MB2mb1s	8.628	4	.071	NO
isoenzima mm 2sp	.133	4	.998	NO
isoenzima mm 2sp	.981	4	.913	NO
isoenzima mm 1sp	3.061	4	.548	NO
isoenzima mm 2sp	5.506	4	.239	NO
isoenzima mm 1sp	3.394	4	.494	NO
isoenzima mm 3mm1s	.740	4	.946	NO
isoenzima mm 2mb1ps	2.412	4	.660	NO
isoenzima mm mbp	.985	4	.912	NO
isoforma MB mb2lp	16.452	4	.002	SI
isoforma MB mb 1 lp	18.184	4	.001	SI
isoforma MB por mb1 lp	4.231	4	.376	NO
isoforma MB pormb2lp	4.231	4	.376	NO
isoforma MB2mb1 lp	2.887	4	.577	NO
isoenzima MM 3lp	4.093	4	.394	NO
isoenzima MM 2lp	4.636	4	.327	NO
isoenzima MM 1 lp	.891	4	.926	NO
isoenzima MB 2lp	.704	4	.951	NO
isoenzima MB 1 lp	2.446	4	.654	NO
isoenzima MM 3mm 1lp	1.265	4	.867	NO
isoforma MB 2mb1pl	.586	4	.965	NO
mm3mb2p	1.473	4	.831	NO
mm3mb2s	6.124	4	.190	NO

RESULTADOS

Tabla 19b. Comparación de la expresión de isoenzimas, isoformas enzimáticas y marcadores serológicos cardíacos para el GRUPO 2 de causas diagnósticas (Prueba de Kruskal-Wallis)

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
Ckmbbs	1.375	2	.503	NO
Miogs	2.915	2	.233	NO
Trops	5.773	2	.056	NO
Ckmb1p	5.078	2	.079	NO
Mioglp	2.300	2	.317	NO
Trop1p	6.589	2	.037	SI
isoforma MB spj	.356	2	.837	NO
isoforma MB2s	.312	2	.856	NO
isoforma MB1s	.496	2	.780	NO
isoforma MB2sb	.872	2	.647	NO
isoforma MB1s	.872	2	.647	NO
isoforma MB2mb1s	.872	2	.647	NO
isoenzima mm 2sp	.272	2	.873	NO
isoenzima mm 2sp	.216	2	.898	NO
isoenzima mm 1sp	.024	2	.988	NO
isoenzima mm 2sp	.959	2	.619	NO
isoenzima mm 1sp	2.755	2	.252	NO
isoenzima mm 3mm1s	.068	2	.966	NO
isoenzima mm 2mb1ps	2.136	2	.344	NO
isoenzima mm mbp	.151	2	.927	NO
isoforma MB mb2lp	6.404	2	.041	SI
isoforma MB mb 1 lp	9.156	2	.010	SI
isoforma MB por mb1 lp	2.407	2	.300	NO
isoforma MB pormb2lp	2.407	2	.300	NO
isoforma MB2mb1 lp	1.765	2	.414	NO
isoenzima MM 3lp	.369	2	.831	NO
isoenzima MM 2lp	.716	2	.699	NO
isoenzima MM 1 lp	1.051	2	.591	NO
isoenzima MB 2lp	.715	2	.700	NO
isoenzima MB 1 lp	1.421	2	.491	NO
isoenzima MM 3mm 1lp	1.124	2	.570	NO
isoforma MB 2mb1pl	2.247	2	.325	NO
mm3mb2p	.746	2	.689	NO
mm3mb2s	.309	2	.857	NO

Tabla 19c. Comparación de la expresión de isoenzimas, isoformas enzimáticas y marcadores serológicos cardíacos para el GRUPO 3 de causas diagnósticas (Prueba de Kruskal-Wallis)

Variable	Chi-cuadrado	GI	valor de P	Resultado
Ckmb s	8.939	3	.030	SI
Miogs	6.000	3	.112	NO
Trops	2.979	3	.395	NO
Ckmb1p	5.082	3	.166	NO
Miogl p	10.316	3	.016	SI
Tropl p	8.055	3	.045	SI
isoforma MB spj	2.373	3	.499	NO
isoforma MB2 s	8.749	3	.033	SI
isoforma MB1s	3.189	3	.363	NO
isoforma MB2sb	6.831	3	.077	NO
isoforma MB1s	6.831	3	.077	NO
isoforma MB2mb1s	6.831	3	.077	NO
isoenzima mm 2sp	5.555	3	.135	NO
isoenzima mm 2sp	1.554	3	.670	NO
isoenzima mm 1sp	4.946	3	.176	NO
isoenzima mm 2sp	.505	3	.918	NO
isoenzima mm 1sp	3.039	3	.386	NO
isoenzima mm 3mm1s	5.444	3	.142	NO
isoenzima mm 2mb1ps	3.503	3	.320	NO
isoenzima mm mbp	2.680	3	.444	NO
isoforma MB mb2lp	4.738	3	.192	NO
isoforma MB mb 1 lp	6.699	3	.082	NO
isoforma MB por mb1 lp	5.845	3	.119	NO
isoforma MB pomb2lp	5.845	3	.119	NO
isoforma MB2mb1 lp	5.845	3	.119	NO
isoenzima MM 3lp	1.813	3	.612	NO
isoenzima MM 2lp	3.643	3	.303	NO
isoenzima MM 1 lp	.844	3	.839	NO
isoenzima MB 2lp	3.383	3	.336	NO
isoenzima MB 1 lp	2.668	3	.446	NO
isoenzima MM 3mm 1lp	.340	3	.952	NO
isoforma MB 2mb1pl	.470	3	.926	NO
mm3mb2p	2.357	3	.502	NO
mm3mb2s	1.701	3	.637	NO

RESULTADOS

Tabla 20a. Comparación entre causas diagnósticas de la expresión de isoenzimas, isoformas enzimáticas y marcadores serológicos cardíacos para el GRUPO 1 (Test de la U de mann-Whitney)

Ckmbs	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	0.088	1.000	1.000
Asfixia por sumersión			-	0.028	0.117
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

Ckmb1p	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.031	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	0.002	0.503	0.004
Asfixia por sumersión			-	0.309	1.000
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

Trop1p	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.044	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	0.019	0.230	0.003
Asfixia por sumersión			-	0.849	1.000
Traumatismo				-	0.332
Otras causas de muerte natural					-

isoforma MB2s	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	0.243	0.569	1.000
Asfixia por sumersión			-	0.010	0.588
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

isoforma MB mb2lp	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.083	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	0.004	1.000	0.039
Asfixia por sumersión			-	0.682	1.000
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

isoforma MB mb 1 lp	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.083	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	0.005	0.354	0.031
Asfixia por sumersión			-	0.275	1.000
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

RESULTADOS

Tabla 20b. Comparación entre causas diagnósticas de la expresión de isoenzimas, isoformas enzimáticas y marcadores serológicos cardíacos para el GRUPO 2 (Test de la U de mann-Whitney)

tropIβ	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.147	.032
Suicida		-	1.000
Accidental			-

isoforma MB mb2Iβ	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.532	.028
Suicida		-	.520
Accidental			-

isoforma MB mb 1 Iβ	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.532	.004
Suicida		-	.547
Accidental			-

Tabla 20c. Comparación entre causas diagnósticas de la expresión de isoenzimas, isoformas enzimáticas y marcadores serológicos cardíacos para el GRUPO 1 (Test de la U de mann-Whitney)

Ckmb	Infarto	Traumatismo	Asfixia	Otras causas muerte
Infarto	-	.933	1.000	.281
Traumatismo		-	.285	.028
Asfixia			-	1.000
Otras causas muerte				-

Miogl	Infarto	Traumatismo	Asfixia	Otras causas muerte
Infarto	-	1.000	.431	.008
Traumatismo		-	1.000	.350
Asfixia			-	1.000
Otras causas muerte				-

isoforma MB2s	Infarto	Traumatismo	Asfixia	Otras causas muerte
Infarto	-	.507	1.000	.320
Traumatismo		-	.776	.027
Asfixia			-	.936
Otras causas muerte				-

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LOS MARCADORES CARDÍACOS EN SUERO Y LÍQUIDO PERICÁRDICO.

En la tabla 21 se detallan los valores medios y de dispersión de los marcadores cardíacos en suero y en líquido pericárdico. En las figuras 25 y 26 se indican los niveles de expresión de troponina I y CK-MB separadas por causa de muerte

Figura 25. Expresión de Troponina I en Líquido pericárdico en las diferentes causas de muerte (GRUPO1 de clasificación diagnóstica).

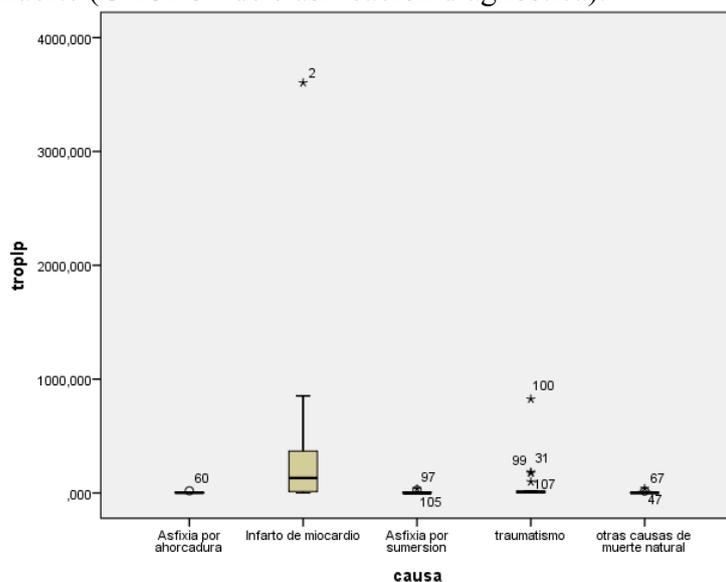


Figura 26. CK-MB en suero en las diferentes causas de muerte (GRUPO1 de clasificación diagnóstica).

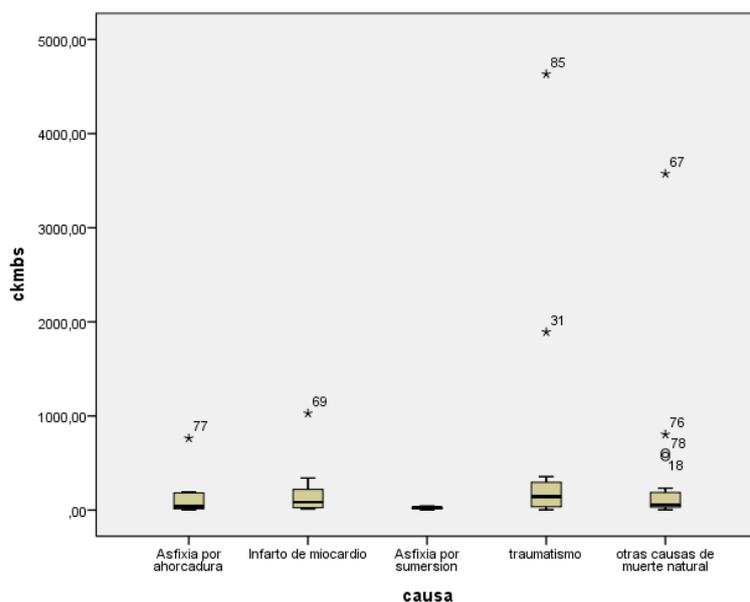


Tabla 21. Expresión de marcadores serológicos y en líquido pericárdico en las diferentes causas de muerte

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Ckmbs	Asfixia por ahorcadura	8	154.58	257.04	90.88	2.30	764.00
	Infarto de miocardio	19	170.35	235.56	54.04	12.00	1028.00
	Asfixia por sumersión	9	23.80	11.56	3.85	5.60	41.70
	Traumatismo	19	475.01	1089.59	249.97	3.50	4632.00
	Otras causas de muerte natural	19	337.67	817.98	187.66	2.30	3574.00
	Total	74	272.00	708.09	82.31	2.30	4632.00
Miogs	Asfixia por ahorcadura	8	26690.19	40378.59	14275.99	14.52	93120.00
	Infarto de miocardio	19	27559.53	47185.78	10825.16	1320.00	210240.00
	Asfixia por sumersión	9	5022.82	4433.92	1477.97	654.00	11740.00
	Traumatismo	19	42816.47	78409.94	17988.47	1000.00	298336.00
	Otras causas de muerte natural	19	46651.16	106943.84	24534.60	580.00	457320.00
	Total	74	33543.82	72286.94	8403.19	14.52	457320.00
Trops	Asfixia por ahorcadura	8	5.59	6.54	2.31	0.04	16.50
	Infarto de miocardio	19	50.54	171.61	39.37	0.01	748.54
	Asfixia por sumersión	9	0.10	0.09	0.03	0.00	0.28
	Traumatismo	19	10.02	20.61	4.73	0.00	86.00
	Otras causas de muerte natural	19	2.79	7.64	1.75	0.00	32.43
	Total	74	16.89	88.27	10.26	0.00	748.54
Ckmblp	Asfixia por ahorcadura	8	89.07	106.69	37.72	0.30	320.88
	Infarto de miocardio	19	1682.18	3912.88	897.68	15.90	13456.00
	Asfixia por sumersión	9	28.97	24.11	8.04	0.00	72.40
	Traumatismo	19	462.66	1023.92	234.90	0.00	4312.00
	Otras causas de muerte natural	19	101.22	138.50	31.77	4.00	500.00
	Total	74	589.85	2117.26	246.13	0.00	13456.00
Mioglp	Asfixia por ahorcadura	8	14364.03	22420.28	7926.76	169.21	65990.00
	Infarto de miocardio	19	31286.58	58302.50	13375.51	1798.00	264504.00
	Asfixia por sumersión	9	8341.22	11154.48	3718.16	62.00	33320.00
	Traumatismo	19	26444.26	39180.31	8988.58	60.00	152320.00
	Otras causas de muerte natural	19	10531.93	11068.16	2539.21	245.00	46420.00
	Total	74	20094.27	37366.31	4343.74	60.00	264504.00
Tropolp	Asfixia por ahorcadura	8	4.86	6.76	2.39	0.12	19.60
	Infarto de miocardio	19	365.91	817.25	187.49	0.01	3603.00
	Asfixia por sumersión	9	8.03	13.43	4.48	0.01	36.12
	Traumatismo	19	72.60	190.80	43.77	0.01	825.02
	Otras causas de muerte natural	19	5.57	9.26	2.12	0.02	38.86
	Total	74	115.52	443.19	51.52	0.01	3603.00

Leyenda de la tabla: CKMBS: CK-MB en suero; MIOGS: Mioglobina en suero; TROPOS: Troponina cardíaca I (cTnI) en suero; CKMBLP: CK-MB en líquido pericárdico; MIOGLP: Mioglobina en líquido pericárdico; TROPOLP: Troponina cardíaca I (cTnI) en líquido pericárdico.

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LOS MARCADORES CARDÍACOS EN SUERO Y LÍQUIDO PERICÁRDICO.

De los 3 marcadores cardíacos empleados CK-MB, Mioglobina y cTnI en suero y líquido pericárdico cuando fueron analizados frente a GRUPO 1 de clasificación diagnóstica se obtuvieron valores significativos para (ver tablas 20-21):

- CK-MB en suero entre las diferentes causas diagnósticas de muerte ($P=0.033$, test de Kruskal-Wallis (K-W)) que corregido para comparaciones múltiples a través del test de la U de Mann-Whitney, indica que las diferencias de expresión se establecieron entre la causa de muerte por traumatismo y asfixia por sumersión ($P= 0.001$).

- CK-MB en líquido pericárdico mostró expresión con diferencias estadísticas entre las causas de muerte ($P=0.000$, test K-W) que corregido con las comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney para comparación entre parejas; indicó que la expresión de CK-MB en infarto de miocardio fue mayor de manera estadísticamente significativa comparado con la expresión en asfixia por ahorcadura $P=0.031$; asfixia por sumersión $P=0.002$; otras causas de muertes naturales $P=0.004$, test de la U de Mann-Whitney.

- cTnI en líquido pericárdico también mostró expresión con diferencias estadísticas entre las causas de muerte ($P=0.000$, test K-W), que corregido con las comparaciones múltiples a través del test de la U de Mann-Whitney para comparación entre parejas; Indicó que la expresión de CK-MB en infarto de miocardio fue mayor de manera estadísticamente significativa comparado con la expresión en asfixia por ahorcadura $P=0.044$; asfixia por sumersión $P=0.019$; otras causas de muertes naturales $P=0.003$, test de la U de Mann-Whitney.

Cuando los marcadores cardíacos se enfrentaron a GRUPO 2 de clasificación diagnóstica sólo fue significativo la expresión de cTnI en líquido pericárdico ($P=0.037$, K-W) y específicamente entre muertes de causa “natural” vs. “accidental” ($P=0.032$, test U de Mann-Whitney).

En el caso de las comparaciones establecidas con el GRUPO 3 de clasificación diagnóstica fue significativo frente a:

- Los niveles de CK-MB en suero fueron estadísticamente significativo ($P=0.030$, test de K-W) específicamente al compara los diagnósticos de traumatismo frente a otras causas de muerte natural ($P=0.028$, test de la U de Mann-Whitney).

- Los niveles de Mioglobina- ($P=0.16$, test de K-W) especialmente al enfrentar IM vs otras causas de muerte natural ($P=0.008$, test de la U de Mann-Whitney).

- Sin embargo, los niveles de cTnI no resultaron estadísticamente significativos ($P=0.45$, test de K-W) ni permitió diferenciar entre causas de muerte.

A continuación se muestran las tablas del estudio analítico estadístico de isoenzimas, isoformas y marcadores serológicos cardíacos.

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

El análisis estadístico descriptivo de la lipoperoxidación queda especificado en la tablas 22 a 24 y en las figuras 27 a 30:

Tabla 22. Estadísticos descriptivos de los valores de Peroxidación lipídica en tejido cardíaco

Variables	N		Media	Error típ. de la media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
	Válidos	Perdidos							
peroxidación lst	74	114	258.10	12.41	246.06	106.80	479.21	70.94	550.15
peroxidación lsvd	74	114	352.60	40.35	214.97	347.11	1738.26	86.45	1824.71
peroxidación lsvil	74	114	271.79	13.75	271.56	118.29	605.77	62.71	668.48
peroxidación lsvia	74	114	275.88	14.93	256.07	128.42	530.99	86.45	617.44
peroxidación lsvip	74	114	273.72	16.24	255.95	139.73	904.46	44.11	948.56
peroxidación livip	74	114	271.38	14.57	243.71	125.37	658.28	43.10	701.38
peroxidación lit	74	114	272.08	13.86	259.64	119.21	616.57	51.17	667.74
peroxidación livia	74	114	269.02	13.87	248.85	119.34	607.90	18.21	626.11
peroxidación livil	74	114	276.56	14.61	258.91	125.65	648.83	70.94	719.77
peroxidación livd	74	114	341.84	42.51	237.21	365.73	2471.58	44.28	2515.86
peroxidación la	74	114	298.81	25.46	260.27	219.01	1472.13	40.56	1512.70
Peroxidac.me dia	74	114	287.43	17.19	262.43	147.86	714.08	83.15	797.23

LST = Lipoperoxidación en tercio superior del tabique interventricular
 LSVD = Lipoperoxidación en zona superior del ventrículo derecho
 LSVIL = Lipoperoxidación en zona superolateral del ventrículo izquierdo
 LSVIA =Lipoperoxidación en zona superoanterior del ventrículo izquierdo
 LSVIP =Lipoperoxidación en zona superoposterior del ventrículo izquierdo
 LIVIP=Lipoperoxidación en zona inferoposterior del ventrículo izquierdo
 LIT = Lipoperoxidación en tercio inferior del tabique interventricular
 LIVIA= Lipoperoxidación en zona inferoanterior del ventrículo izquierdo
 LIVIL=Lipoperoxidación en zona inferolateral del ventrículo izquierdo
 LIVD=Lipoperoxidación en zona inferior del ventrículo derecho
 LA =Lipoperoxidación en ápex
 PEROXMED = Peroxidación media

En las tablas siguientes (23a, b y c) se muestran los valores medios y parámetros de dispersión para las muestras obtenidas de tejidos cardíacos de cada una de las 11 zonas estudiadas.

Tabla 23a. Descriptivos de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 1 de la clasificación diagnóstica

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
peroxidación Ist	Asfixia por ahorcadura	8	222.07	98.16	34.70	99.67	373.46
	Infarto de miocardio	19	305.38	83.01	19.04	104.44	497.77
	Asfixia por sumersión	9	283.55	101.22	33.74	135.49	397.54
	Traumatismo	19	296.02	119.17	27.34	111.03	550.15
	Otras causas de muerte natural	19	176.02	70.54	16.18	70.94	345.67
	Total	74	258.10	106.80	12.41	70.94	550.15
peroxidación lsvd	Asfixia por ahorcadura	8	473.53	612.37	216.50	86.45	1824.71
	Infarto de miocardio	19	443.92	425.83	97.69	124.53	1813.31
	Asfixia por sumersión	9	283.56	151.17	50.39	161.69	499.39
	Traumatismo	19	414.74	310.01	71.12	151.24	1076.88
	Otras causas de muerte natural	19	180.95	48.32	11.09	118.24	306.14
	Total	74	352.60	347.11	40.35	86.45	1824.71
peroxidación lsvil	Asfixia por ahorcadura	8	246.14	109.93	38.87	78.19	435.69
	Infarto de miocardio	19	361.86	120.55	27.66	130.60	668.48
	Asfixia por sumersión	9	274.72	73.78	24.59	197.13	388.75
	Traumatismo	19	281.30	113.27	25.99	98.44	438.26
	Otras causas de muerte natural	19	181.61	68.75	15.77	62.71	366.29
	Total	74	271.79	118.29	13.75	62.71	668.48
peroxidación lsvia	Asfixia por ahorcadura	8	237.74	103.77	36.69	86.45	427.28
	Infarto de miocardio	19	319.39	119.31	27.37	113.57	617.44
	Asfixia por sumersión	9	323.41	137.50	45.83	151.98	536.91
	Traumatismo	19	319.29	139.38	31.98	132.48	574.25
	Otras causas de muerte natural	19	182.49	75.27	17.27	94.95	357.70
	Total	74	275.88	128.42	14.93	86.45	617.44
peroxidación lsvip	Asfixia por ahorcadura	8	248.64	111.48	39.41	86.45	439.05
	Infarto de miocardio	19	333.16	171.97	39.45	162.88	948.56
	Asfixia por sumersión	9	268.86	121.90	40.63	128.48	513.04
	Traumatismo	19	322.23	131.23	30.11	144.38	599.24
	Otras causas de muerte natural	19	178.63	70.03	16.07	44.11	362.86
	Total	74	273.72	139.73	16.24	44.11	948.56
peroxidación livip	Asfixia por ahorcadura	8	260.92	193.83	68.53	68.17	701.38
	Infarto de miocardio	19	305.86	110.99	25.46	150.10	641.72
	Asfixia por sumersión	9	287.08	137.34	45.78	134.89	581.60
	Traumatismo	19	316.59	111.02	25.47	140.09	548.84
	Otras causas de muerte natural	19	188.65	72.76	16.69	43.10	380.04
	Total	74	271.38	125.37	14.57	43.10	701.38

RESULTADOS

Tabla 23b. Descriptivos de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 1 de la clasificación diagnóstica							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
peroxidación lit	Asfixia por ahorcadura	8	221.05	125.69	44.44	51.58	410.46
	Infarto de miocardio	19	335.14	121.53	27.88	130.50	667.74
	Asfixia por sumersión	9	275.36	103.17	34.39	149.84	479.91
	Traumatismo	19	305.94	117.49	26.95	111.04	517.45
	Otras causas de muerte natural	19	195.08	73.20	16.79	51.17	354.26
	Total	74	272.08	119.21	13.86	51.17	667.74
peroxidación livia	Asfixia por ahorcadura	8	235.57	176.60	62.44	18.21	558.44
	Infarto de miocardio	19	317.37	113.35	26.00	137.31	626.11
	Asfixia por sumersión	9	287.74	94.17	31.39	158.60	424.34
	Traumatismo	19	305.39	111.81	25.65	141.78	569.09
	Otras causas de muerte natural	19	189.52	71.61	16.43	88.79	390.35
	Total	74	269.02	119.34	13.87	18.21	626.11
peroxidación livil	Asfixia por ahorcadura	8	250.96	153.68	54.33	114.55	535.19
	Infarto de miocardio	19	336.63	112.22	25.75	175.67	719.77
	Asfixia por sumersión	9	305.61	116.09	38.70	141.65	471.33
	Traumatismo	19	298.79	134.40	30.83	142.76	686.14
	Otras causas de muerte natural	19	191.27	73.98	16.97	70.94	416.13
	Total	74	276.56	125.65	14.61	70.94	719.77
peroxidación livd	Asfixia por ahorcadura	8	575.80	837.19	295.99	44.28	2515.86
	Infarto de miocardio	19	428.43	387.91	88.99	142.79	1531.48
	Asfixia por sumersión	9	265.25	80.06	26.69	174.01	368.37
	Traumatismo	19	357.15	220.27	50.53	134.72	923.81
	Otras causas de muerte natural	19	177.72	64.75	14.86	46.93	302.70
	Total	74	341.84	365.73	42.51	44.28	2515.86
peroxidación la	Asfixia por ahorcadura	8	305.31	272.50	96.34	98.97	831.19
	Infarto de miocardio	19	405.46	332.71	76.33	231.50	1512.70
	Asfixia por sumersión	9	291.50	115.63	38.54	141.81	467.28
	Traumatismo	19	317.38	119.83	27.49	134.85	531.41
	Otras causas de muerte natural	19	174.33	76.62	17.58	40.56	367.53
	Total	74	298.81	219.01	25.46	40.56	1512.70
Peroxidac.media	Asfixia por ahorcadura	8	297.98	241.35	85.33	92.15	797.23
	Infarto de miocardio	19	353.87	157.07	36.03	148.87	774.48
	Asfixia por sumersión	9	286.06	88.81	29.60	176.68	392.54
	Traumatismo	19	321.35	130.22	29.88	142.30	592.25
	Otras causas de muerte natural	19	183.30	59.22	13.59	83.15	346.76
	Total	74	287.43	147.86	17.19	83.15	797.23

También se tomaron muestras de suero y líquido pericárdico; con ambos valores se creó otra variante Lp-Lpc (calculada como valores de lipoperoxidación suero menos los valores de lipoperoxidación en líquido pericárdico). Los valores medios y de dispersión se presentan en la tabla siguiente.

Tabla 23c. Descriptivos de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 1 de la clasificación diagnóstica							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
lipoperox.suero	Asfixia por ahorcadura	8	31.26	20.49	7.24	13.68	78.03
	Infarto de miocardio	20	38.55	21.19	4.74	11.58	79.99
	Asfixia por sumersión	8	33.40	28.18	9.96	7.79	99.12
	Traumatismo	20	38.42	13.95	3.12	22.19	75.86
	Otras causas de muerte natural	16	13.82	5.63	1.41	5.87	24.88
	Total	72	31.64	19.92	2.35	5.87	99.12
lipoperox.lp	Asfixia por ahorcadura	8	11.38	4.64	1.64	3.04	17.75
	Infarto de miocardio	20	21.90	14.31	3.20	4.63	56.78
	Asfixia por sumersión	8	12.23	6.94	2.45	5.87	27.10
	Traumatismo	20	18.51	12.64	2.83	3.17	45.52
	Otras causas de muerte natural	16	12.43	7.80	1.95	4.51	32.33
	Total	72	16.61	11.64	1.37	3.04	56.78
liprexosuero menos pericardico	Asfixia por ahorcadura	8	19.88	21.33	7.54	0.98	67.17
	Infarto de miocardio	20	16.65	24.30	5.43	-17.76	67.85
	Asfixia por sumersión	8	21.17	22.83	8.07	-1.53	72.02
	Traumatismo	20	19.90	14.64	3.27	-3.26	62.69
	Otras causas de muerte natural	16	1.39	6.42	1.60	-13.86	9.75
	Total	72	15.02	19.41	2.29	-17.76	72.02

Leyenda de la tabla 23: LpSuero (Lipoperoxidación Suero).Lp (Lipoperoxidación Líquido Pericárdico).Lp-Lpc; (Lipoperoxidación suero menos líquido pericárdico).

Figura 27.

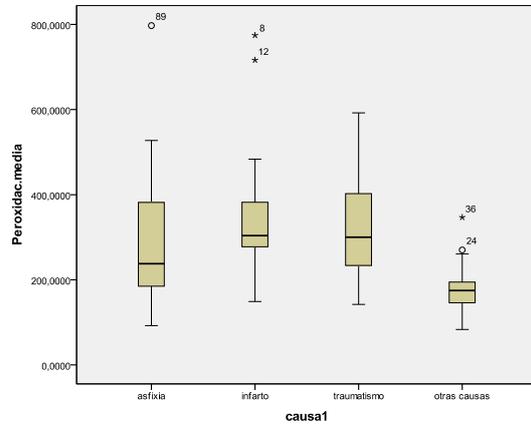


Figura 28.

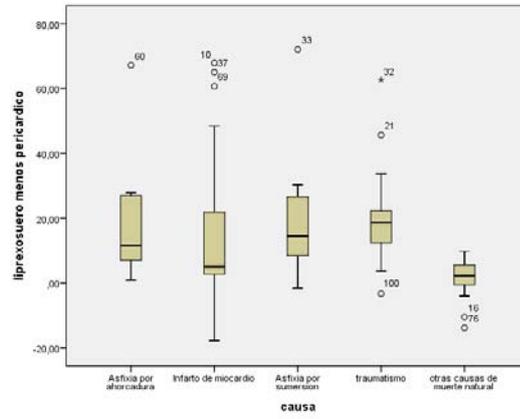


Figura 29.

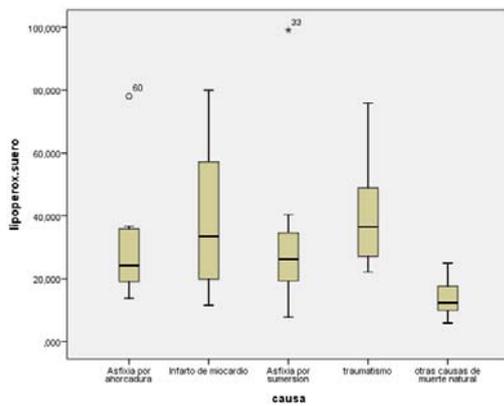
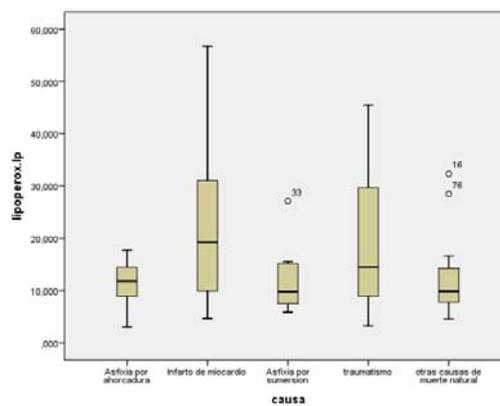


Figura 30.



Figuras 27 a 30. Valores de peroxidación lipídica en Líquido pericárdico y tejido en las diferentes causas de muerte (GRUPO1 de clasificación diagnóstica).

Tabla 24a. Descriptivos de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 2 de la clasificación diagnóstica

Variable	Etiología ¹	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
peroxidación lst	Natural	29	258.35	98.16	18.23	82.84	497.77
	Suicida	14	230.11	114.69	30.65	70.94	421.87
	Accidental	31	270.51	111.96	20.11	111.03	550.15
	Total	74	258.10	106.80	12.41	70.94	550.15
peroxidación lsvd	Natural	29	346.58	368.18	68.37	118.24	1813.31
	Suicida	14	419.70	483.68	129.27	86.45	1824.71
	Accidental	31	327.94	250.03	44.91	139.41	1076.88
	Total	74	352.60	347.11	40.35	86.45	1824.71
peroxidación lsvil	Natural	29	291.63	139.81	25.96	62.71	668.48
	Suicida	14	248.18	118.89	31.77	78.19	435.69
	Accidental	31	263.89	94.73	17.01	98.44	438.26
	Total	74	271.79	118.29	13.75	62.71	668.48
peroxidación lsvia	Natural	29	265.92	125.10	23.23	96.21	617.44
	Suicida	14	244.34	124.10	33.17	86.45	498.14
	Accidental	31	299.43	133.11	23.91	132.48	574.25
	Total	74	275.88	128.42	14.93	86.45	617.44
peroxidación lsvip	Natural	29	275.46	161.33	29.96	115.68	948.56
	Suicida	14	264.88	136.29	36.42	44.11	466.21
	Accidental	31	276.08	122.99	22.09	114.15	599.24
	Total	74	273.72	139.73	16.24	44.11	948.56
peroxidación livip	Natural	29	255.43	114.50	21.26	127.71	641.72
	Suicida	14	273.87	177.84	47.53	43.10	701.38
	Accidental	31	285.17	108.89	19.56	134.89	581.60
	Total	74	271.38	125.37	14.57	43.10	701.38
peroxidación lit	Natural	29	278.82	127.86	23.74	87.17	667.74
	Suicida	14	251.76	138.18	36.93	51.17	512.33
	Accidental	31	274.94	103.94	18.67	111.04	517.45
	Total	74	272.08	119.21	13.86	51.17	667.74
peroxidación livia	Natural	29	261.98	121.18	22.50	88.79	626.11
	Suicida	14	269.49	155.10	41.45	18.21	558.44
	Accidental	31	275.39	102.15	18.35	125.68	569.09
	Total	74	269.02	119.34	13.87	18.21	626.11
peroxidación lvil	Natural	29	278.88	122.90	22.82	111.90	719.77
	Suicida	14	262.04	142.21	38.01	70.94	535.19
	Accidental	31	280.95	124.23	22.31	133.72	686.14
	Total	74	276.56	125.65	14.61	70.94	719.77
peroxidación livd	Natural	29	334.47	338.81	62.92	85.38	1531.48
	Suicida	14	473.90	656.38	175.42	44.28	2515.86
	Accidental	31	289.11	143.43	25.76	134.72	731.79
	Total	74	341.84	365.73	42.51	44.28	2515.86
peroxidación la	Natural	29	315.76	295.89	54.95	96.82	1512.70
	Suicida	14	267.47	215.22	57.52	40.56	831.19
	Accidental	31	297.12	119.11	21.39	134.85	531.41
	Total	74	298.81	219.01	25.46	40.56	1512.70
Peroxidac.media	Natural	29	287.57	157.17	29.19	130.02	774.48
	Suicida	14	291.43	203.19	54.31	83.15	797.23
	Accidental	31	285.50	110.64	19.87	142.30	592.25
	Total	74	287.43	147.86	17.19	83.15	797.23

RESULTADOS

Leyenda de la tabla 24a:

LST = Lipoperoxidación en tercio superior del tabique interventricular

LSVD = Lipoperoxidación en zona superior del ventrículo derecho

LSVIL = Lipoperoxidación en zona superolateral del ventrículo izquierdo

LSVIA = Lipoperoxidación en zona superoanterior del ventrículo izquierdo

LSVIP = Lipoperoxidación en zona superoposterior del ventrículo izquierdo

LIVIP = Lipoperoxidación en zona inferoposterior del ventrículo izquierdo

LIT = Lipoperoxidación en tercio inferior del tabique interventricular

LIVIA = Lipoperoxidación en zona inferoanterior del ventrículo izquierdo

LIVIL = Lipoperoxidación en zona inferolateral del ventrículo izquierdo

LIVD = Lipoperoxidación en zona inferior del ventrículo derecho

LA = Lipoperoxidación en ápex

PEROXMED = Peroxidación media

Tabla 24b. Descriptivos de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 2 de la clasificación diagnóstica

Variable	Etiología1	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
lipoperox.suero	Natural	27	32.43	21.43	4.12	8.69	79.99
	Suicida	13	28.70	20.14	5.59	5.87	78.03
	Accidental	31	32.21	19.35	3.48	6.35	99.12
	Total	71	31.65	20.06	2.38	5.87	99.12
lipoperox.lp	Natural	27	19.47	13.61	2.62	4.63	56.78
	Suicida	13	11.66	6.30	1.75	3.04	28.51
	Accidental	31	15.88	11.06	1.99	3.17	45.52
	Total	71	16.47	11.66	1.38	3.04	56.78
lipexosuero menos pericárdico	Natural	27	12.96	22.09	4.25	-17.76	67.85
	Suicida	13	17.04	21.40	5.93	-13.86	67.17
	Accidental	31	16.33	16.54	2.97	-3.26	72.02
	Total	71	15.18	19.50	2.31	-17.76	72.02

Leyenda de la tabla: LpSuero (Lipoperoxidación Suero).Lp (Lipoperoxidación Líquido Pericárdico).Lp-Lpc; (Lipoperoxidación suero menos líquido pericárdico).

La Lipoperoxidación no fue significativa para GRUPO 3 de clasificación diagnóstica por lo que no se ha incluido tabla con los valores medios y de dispersión.

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LA LIPOPEROXIDACIÓN EN TEJIDO CARDÍACO

Tras el análisis estadístico de los niveles de peroxidación lipídica encontramos que prácticamente casi todos tienen significación estadística cuando se hizo frente al GRUPO 1 de diagnósticos de causa de muerte. No se encontró dicha significación cuando se analizó frente a la forma de estratificar las causas de muerte en GRUPO 2 ni en el GRUPO 3. El diagnóstico de causa de muerte que mejor separa los niveles de peroxidación son las muertes naturales del resto de causas (tabla 26). La significación estadística para la lipoperoxidación fue obtenida en cada una de las áreas cardíacas estudiadas ($P < 0.001$, Test de K-W) (tabla 25). Los datos que mostramos a continuación son las comparaciones con el test U de Mann-Whitney entre parejas frente a GRUPO 1 de causas diagnósticas:

-Lipoperoxidación Lst.-

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, $P = 0.001$
 - o Asfixia por sumersión, $P = 0.049$
 - o Traumatismo, $P = 0.007$

-Lipoperoxidación lsvd- .-

- Otras causas de muertes naturales vs. traumatismo con $P = 0.010$

-Lipoperoxidación lsvil-.

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, $P = 0.001$
 - o Asfixia por sumersión, $P = 0.014$

-Lipoperoxidación lsvia-.

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, $P = 0.004$
 - o Traumatismo, $P = 0.008$

-Lipoperoxidación lsvip-.

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, $P = 0.001$
 - o Traumatismo, $P = 0.002$

-Lipoperoxidación livip -.

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, P= 0.002
 - o Traumatismo, P= 0.004

-Lipoperoxidación lit-.

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, P= 0.001
 - o Traumatismo, P= 0.010

-Lipoperoxidación livia-. (P= 0.002, test de K-W) tras establecer la corrección con las comparaciones a través del test U de Mann-Whitney entre parejas:

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, P=0.001
 - o Traumatismo, P=0.015

-Lipoperoxidación livil-. (P= 0.001, test de K-W) que se corrigió en comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney para comparación entre parejas;

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM, P= 0.000
 - o Traumatismo, P=0.030

-Lipoperoxidación livd-. (P= 0.005, test de K-W) que se corrigió en comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney para comparación entre parejas;

Oreas Causas de Muertes Naturales vs.

- o IM, P=0.003
- o Traumatismo, P=0.025

-Lipoperoxidación la-.

- Otras causas de muertes naturales vs.
 - o IM,P= 0.000
 - o Traumatismo, P=0.001

-Lipoperoxidación media-. (P= 0.000, test de K-W) fue la que mejor resultado dió en la evaluación que tras corregirlas comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney entre parejas permitió diferenciar entre:

Otras causas de muertes naturales vs.

- o IM, P=0.000
- o Asfixia por sumersión, P= 0.031

- Traumatismo, $P=0.004$

Se puede apreciar que la Media de lipoperoxidación en las distintas áreas cardíacas fue capaz de diferenciar significativamente la muertes debidas a “Otras causas naturales” del resto de las causas salvo asfixias por ahorcamiento. Esta última pudo separarse de otras causas de muertes naturales mediante la lipoperoxidación del suero.

-La lipoperoxidación en suero -. ($P= 0.000$, test de K-W) fue la que mejor resultado dió en la evaluación que tras corregirlas comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney entre parejas permitió diferenciar entre:

Otras causas de muertes naturales vs.

- Asfixia por ahorcadura, $P= 0.024$

El cálculo realizado entre peroxidación en suero y en tejido (Lps-LpLc) permitió obtener significación estadística ($P=0, 000$, test de K-W) para diferenciar “otras causas de muerte natural “frente al resto de causas, excepto IM.

- Lps-LpL una vez corregidas las comparaciones múltiples a través del test U de Mann-Whitney para comparación entre parejas;

- Otras causas de muertes naturales vs.

- Asfixias por ahorcadura, $P= 0.044$
- Asfixia por sumersión, $P= 0.024$
- Traumatismo, $P= 0.000$

No hubo significación estadística cuando se enfrentaron los distintos parámetros de lipoperoxidación con la estratificación de casusas de muerte presentes en GRUPO 2 y GRUPO 3

RESULTADOS

TABLAS CON LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LOS VALORES DE PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Tabla 25a. Comparación de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 1 de la clasificación diagnóstica (Prueba de Kruskal-Wallis)

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
peroxidación Ist	20.329	4	.000	si
peroxidación lsvd	18.368	4	.001	si
peroxidación lsvil	22.657	4	.000	si
peroxidación lsvia	18.434	4	.001	si
peroxidación lsvip	20.692	4	.000	si
peroxidación livip	18.502	4	.001	si
peroxidación lit	18.022	4	.001	si
peroxidación livia	17.518	4	.002	si
peroxidación lvil	19.043	4	.001	si
peroxidación livd	14.809	4	.005	si
peroxidación la	22.701	4	.000	si
Peroxidac.media	22.273	4	.000	si
lipoperox.suero	29.100	4	.000	si
lipoperox.lp	6.994	4	.136	no
liprexosuero menos pericardico	20.827	4	.000	si

(Si) Si existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.

(No) No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.

LST = Lipoperoxidación en tercio superior del tabique interventricular

LSVD = Lipoperoxidación en zona superior del ventrículo derecho

LSVIL = Lipoperoxidación en zona superolateral del ventrículo izquierdo

LSVIA =Lipoperoxidación en zona superoanterior del ventrículo izquierdo

LSVIP =Lipoperoxidación en zona superoposterior del ventrículo izquierdo

LIVIP=Lipoperoxidación en zona inferoposterior del ventrículo izquierdo

LIT = Lipoperoxidación en tercio inferior del tabique interventricular

LIVIA= Lipoperoxidación en zona inferoanterior del ventrículo izquierdo

LIVIL=Lipoperoxidación en zona inferolateral del ventrículo izquierdo

LIVD=Lipoperoxidación en zona inferior del ventrículo derecho

LA =Lipoperoxidación en ápex

PEROXMED = Peroxidación media

LpSuero (Lipoperoxidación Suero).Lp (Lipoperoxidación Líquido Pericardico).Lp-Lpc; (Lipoperoxidación suero menos líquido pericardico).

Tabla 25b. Comparación de los valores de peroxidación lipídica en GRUPO 2 de la clasificación diagnóstica (Prueba de Kruskal-Wallis)

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
peroxidación lst	1.193	2	.551	NO
peroxidación lsvd	.119	2	.942	NO
peroxidación lsvil	.710	2	.701	NO
peroxidación lsvia	1.866	2	.393	NO
peroxidación lsvip	.239	2	.887	NO
peroxidación livip	1.593	2	.451	NO
peroxidación lit	.141	2	.932	NO
peroxidación livia	.546	2	.761	NO
peroxidación lvil	.458	2	.795	NO
peroxidación livd	.527	2	.768	NO
peroxidación la	3.683	2	.159	NO
Peroxidac.media	.610	2	.737	NO
lipoperox.suero	.749	2	.688	NO
lipoperox.lp	2.683	2	.261	NO

Los parámetros de la lipoperoxidación no fueron significativos para GRUPO 3 de clasificación diagnóstica por lo que no se ha incluido tabla de estadística analítica.

RESULTADOS

Tabla 26. Comparación entre causas diagnósticas de los valores de peroxidación lipídica para el GRUPO 1 (Test de la U de Mann-Whitney)

peroxidación Ist	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.445	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.001
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.049
Traumatismo				-	0.007
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación Isvd	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.898	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.804
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.524
Traumatismo				-	0.010
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación Isvil	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.202	1.000	1.000	0.801
Infarto de miocardio		-	0.417	0.839	0.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.014
Traumatismo				-	0.113
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación lsvia	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.718	1.000	1.000	0.898
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.004
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.057
Traumatismo				-	0.008
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación lsvip	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	1.000	1.000	0.718
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.001
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.417
Traumatismo				-	0.002
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación livip	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.568	1.000	0.718	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.002
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.468
Traumatismo				-	0.004
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación lit	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.568	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.001
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.371
Traumatismo				-	0.010
Otras causas de muerte natural					-

RESULTADOS

peroxidación livia	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.898	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.001
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.076
Traumatismo				-	0.015
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación livil	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.445	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.227
Traumatismo				-	0.030
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación livd	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.003
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.134
Traumatismo				-	0.025
Otras causas de muerte natural					-

peroxidación la	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.303	1.000	1.659	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.088
Traumatismo				-	0.001
Otras causas de muerte natural					-

Peroxidac.media	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	0.639	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.031
Traumatismo				-	0.004
Otras causas de muerte natural					-

lipoperox.suero	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	1.000	0.675	0.024
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	0.000
Asfixia por sumersión			-	0.839	0.076
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

liprexosuero menos pericardico	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	1.000	1.000	0.044
Infarto de miocardio		-	1.000	0.629	0.166
Asfixia por sumersión			-	1.000	0.024
Traumatismo				-	0.000
Otras causas de muerte natural					-

MARCADORES HISTOLÓGICOS DE LESIÓN CARDÍACA

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LOS

MARCADORES HISTOLÓGICOS CARDÍACOS (cTnI y cTnT).

En las tablas 27 a 36 se detallan los valores medios y de dispersión de troponina I y T en función de los grupos de diagnóstico.

Tabla 27a. Valoración semicuantitativa decTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MANUAL TI MEDIA INTENS	Asfixia por ahorcadura	23	2.707	0.334	0.070	2.00	3.00
	Infarto de miocardio	50	2.672	0.544	0.077	0.00	3.00
	Asfixia por sumersión	11	2.932	0.162	0.049	2.50	3.00
	Traumatismo	25	2.830	0.316	0.063	2.00	3.00
	Otras causas de muerte natural	42	2.674	0.479	0.074	.75	3.00
	Total	151	2.723	0.447	0.036	0.00	3.00
MANUAL TI MEDIA EXTENS	Asfixia por ahorcadura	23	2.754	0.257	0.054	2.25	3.00
	Infarto de miocardio	49	2.701	0.345	0.049	2.00	3.00
	Asfixia por sumersión	11	2.909	0.302	0.091	2.00	3.00
	Traumatismo	25	2.730	0.443	0.089	1.67	3.00
	Otras causas de muerte natural	42	2.743	0.390	0.060	.75	3.00
	Total	150	2.741	0.361	0.029	.75	3.00

MANUAL TI MEDIA INTENS = Semicuantitativa cTnI media Intensidad; MANUAL TI MEDIA EXTENS= Semicuantitativa cTnI media Extensión

Tabla 27b. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTOM TRP I MED INT	Asfixia por ahorcadura	23	0.087	0.033	0.007	.04	.18
	Infarto de miocardio	50	0.106	0.074	0.010	.04	.43
	Asfixia por sumersión	11	0.119	0.083	0.025	.04	.32
	Traumatismo	26	0.116	0.082	0.016	.01	.38
	Otras causas de muerte natural	43	0.097	0.060	0.009	0.00	.30
	Total	153	0.103	0.067	0.005	0.00	.43
AUTOM TROP I MED EXT	Asfixia por ahorcadura	23	53.917	6.291	1.312	37.10	63.99
	Infarto de miocardio	50	55.550	6.466	0.914	25.65	70.77
	Asfixia por sumersión	11	58.009	4.412	1.330	51.20	64.60
	Traumatismo	26	56.313	9.544	1.872	22.04	67.29
	Otras causas de muerte natural	43	49.800	12.432	1.896	0.00	63.17
	Total	153	53.995	9.275	0.750	0.00	70.77

AUTOM TI MEDIA INTENS = Automático cTnI media Intensidad; AUTOM TI MEDIA EXTENS= AutomáticocTnI media Extensión

Tabla 27c. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTOM TROP I APEX INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	0.213	0.537	0.123	.03	2.42
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	1	0.094			.09	.09
	Otras causas de muerte natural	16	0.121	0.106	0.026	.02	.43
	Total	36	0.169	0.394	0.066	.02	2.42
AUT TROP I APEX EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	61.319	10.228	2.346	36.87	73.11
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	1	65.560			65.56	65.56
	Otras causas de muerte natural	16	60.733	11.738	2.935	27.47	76.41
	Total	36	61.176	10.653	1.776	27.47	76.41
AUTM TROP I IT INTENS	Asfixia por ahorcadura	23	0.074	0.052	0.011	.01	.23
	Infarto de miocardio	49	0.110	0.139	0.020	0.00	.80
	Asfixia por sumersión	11	0.097	0.056	0.017	.04	.23
	Traumatismo	23	0.089	0.068	0.014	0.00	.24
	Otras causas de muerte natural	41	0.096	0.094	0.015	0.00	.41
	Total	147	0.096	0.101	0.008	0.00	.80
AUTM TROP I IT EXT	Asfixia por ahorcadura	23	57.187	8.991	1.875	34.00	69.24
	Infarto de miocardio	49	58.246	11.329	1.618	0.00	78.58
	Asfixia por sumersión	11	62.625	6.309	1.902	52.34	71.10
	Traumatismo	21	59.714	13.481	2.942	10.00	77.87
	Otras causas de muerte natural	39	56.150	8.776	1.405	23.00	72.91
	Total	143	58.057	10.396	0.869	0.00	78.58
AUTM TROP I IVIP INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.088	0.054	0.014	.03	.24
	Infarto de miocardio	46	0.092	0.068	0.010	0.00	.35
	Asfixia por sumersión	2	0.093	0.059	0.042	.05	.14
	Traumatismo	13	0.092	0.079	0.022	.02	.31
	Otras causas de muerte natural	39	0.078	0.063	0.010	0.00	.27
	Total	116	0.087	0.065	0.006	0.00	.35

RESULTADOS

Tabla 27c. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TROP I IVIP EXT	Asfixia por ahorcadura	16	55.125	6.985	1.746	45.00	67.00
	Infarto de miocardio	45	58.325	9.259	1.380	22.00	76.76
	Asfixia por sumersión	2	58.000	2.828	2.000	56.00	60.00
	Traumatismo	13	58.462	7.623	2.114	50.00	76.00
	Otras causas de muerte natural	38	52.781	12.839	2.083	1.00	73.56
	Total	114	56.038	10.324	0.967	1.00	76.76
AUTM TI IVIL INT	Asfixia por ahorcadura	20	0.078	0.054	0.012	0.00	.18
	Infarto de miocardio	49	0.098	0.091	0.013	0.00	.44
	Asfixia por sumersión	5	0.084	0.017	0.008	.06	.10
	Traumatismo	20	0.128	0.162	0.036	0.00	.68
	Otras causas de muerte natural	41	0.100	0.101	0.016	0.00	.52
	Total	135	0.100	0.102	0.009	0.00	.68
AUTM IVIL TI EXTNS	Asfixia por ahorcadura	18	54.918	11.107	2.618	26.36	73.66
	Infarto de miocardio	45	58.221	9.725	1.450	31.76	80.74
	Asfixia por sumersión	5	60.950	6.497	2.906	52.00	69.15
	Traumatismo	17	58.310	15.769	3.825	7.00	78.15
	Otras causas de muerte natural	39	54.019	10.325	1.653	23.70	69.83
	Total	124	56.542	11.054	0.993	7.00	80.74
AUTM TI IVID INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	0.080	0.078	0.018	.02	.38
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.104	0.090	0.022	.00	.33
	Total	36	0.091	0.083	0.014	.00	.38
AUTM TI IVID EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	59.316	6.397	1.468	46.16	76.63
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	56.711	19.532	4.737	4.84	71.97
	Total	36	58.086	14.042	2.340	4.84	76.63

Tabla 27d. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TI SVIP INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	0.095	0.066	0.016	.03	.28
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.083	0.086	0.021	.00	.38
	Total	35	0.089	0.075	0.013	.00	.38
AUTM TI SVIP EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	62.992	8.094	1.908	47.32	75.32
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	55.012	18.355	4.452	3.19	74.28
	Total	35	59.116	14.411	2.436	3.19	75.32
AUTM TI SVD INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.097	0.062	0.016	0.00	.23
	Infarto de miocardio	46	0.113	0.107	0.016	0.00	.57
	Asfixia por sumersión	2	0.628	0.482	0.341	.29	.97
	Traumatismo	13	0.101	0.078	0.022	0.00	.25
	Otras causas de muerte natural	41	0.128	0.212	0.033	0.00	1.36
	Total	118	0.123	0.165	0.015	0.00	1.36
AUTM TI SVD EXT	Asfixia por ahorcadura	16	52.250	14.826	3.706	0.00	65.00
	Infarto de miocardio	45	58.802	11.691	1.743	0.00	80.20
	Asfixia por sumersión	2	65.500	4.950	3.500	62.00	69.00
	Traumatismo	12	52.000	19.079	5.508	-6.00	65.00
	Otras causas de muerte natural	41	51.731	19.965	3.118	0.00	80.46
	Total	116	54.811	16.370	1.520	-6.00	80.46
AUTM TI SVID INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	0.086	0.048	0.011	.03	.21
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	0.114	0.103	0.024	.01	.41
	Total	37	0.100	0.080	0.013	.01	.41

RESULTADOS

Tabla 27e. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TI SVID EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	60.123	6.762	1.551	47.70	74.57
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	53.815	15.689	3.698	13.33	69.06
	Total	37	57.054	12.219	2.009	13.33	74.57
AUTM TI IVD INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	0.085	0.046	0.011	.02	.21
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.102	0.074	0.019	.01	.24
	Total	35	0.093	0.060	0.010	.01	.24
AUTM TI IVD EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	62.432	5.167	1.185	52.36	71.35
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	60.482	10.065	2.516	33.21	71.16
	Total	35	61.541	7.733	1.307	33.21	71.35
AUTM TI SVIL INT	Asfixia por ahorcadura	1	0.042			.04	.04
	Infarto de miocardio	1	0.106			.11	.11
	Asfixia por sumersión	2	0.086	0.056	0.040	.05	.13
	Traumatismo	3	0.182	0.099	0.057	.08	.28
	Otras causas de muerte natural	1	0.077			.08	.08
	Total	8	0.118	0.080	0.028	.04	.28
AUTM TI SVIL EXT	Asfixia por ahorcadura	1	33.550			33.55	33.55
	Infarto de miocardio	1	67.050			67.05	67.05
	Asfixia por sumersión	2	65.095	0.573	0.405	64.69	65.50
	Traumatismo	3	69.410	6.946	4.011	62.17	76.02
	Otras causas de muerte natural	1	64.390			64.39	64.39
	Total	8	62.926	12.618	4.461	33.55	76.02

Leyenda tabla 27.

AUTOM TROP I APEX INT= Automático cTnI Ápex Intensidad

AUT TROP I APEX EXT = Automático cTnI Ápex Extensión

AUTM TROP I IT INTENS = Automático cTnI tabique interventricular Intensidad

AUTM TROP I IT EXT = Automático cTnI tabique interventricular Extensión

AUTM TROP I IVIP INT = Automático cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TROP I IVIP EXT = Automático cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TI IVIL INT = Automático cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM IVIL TI EXTNS = Automático cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral extensión

AUTM TI IVID INT = Automático cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TI IVID EXT= Automático cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Extensión

AUTM TI SVIP INT = Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TI SVIP EXT= Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TI SVD INT = Automático cTnI área superior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI SVD EXT= Automático cTnI área superior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVID INT= Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TI SVID EXT= Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara distal extensión

AUTM TI IVD INT = Automático cTnI área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI IVD EXT= Automático cTnI área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVIL INT = Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TI SVIL EXT = Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

AUTM TI IVD INT = Automático cTnI área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI IVD EXT = Automático cTnI área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVIL INT = Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TI SVIL EXT = Automático cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

RESULTADOS

Tabla 28. Valoración semicuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
	Infarto de miocardio	50	1.201	1.050	0.149	0.00	3.00
	Asfixia por sumersión	11	1.023	1.003	0.302	0.00	3.00
	Traumatismo	25	0.967	0.839	0.168	0.00	2.67
	Otras causas de muerte natural	42	0.997	1.013	0.156	0.00	3.00
	Total	151	0.994	0.994	0.081	0.00	3.00
MANTROP T MEDIA EXTEN	Asfixia por ahorcadura	23	0.598	0.965	0.201	0.00	3.00
	Infarto de miocardio	50	1.190	1.025	0.145	0.00	3.00
	Asfixia por sumersión	11	1.068	0.895	0.270	0.00	2.00
	Traumatismo	25	1.127	0.920	0.184	0.00	2.50
	Otras causas de muerte natural	42	0.959	0.910	0.140	0.00	2.62
	Total	151	1.016	0.967	0.079	0.00	3.00

MAN TROP T MEDIA INT = SemicuantitativoTnT media Intensidad

MANTROP T MEDIA EXTEN = Semicuantitativo cTnT media Extensión

Tabla 28a. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT MEDIA INT	Asfixia por ahorcadura	23	0.009	0.020	0.004	0.00	.09
	Infarto de miocardio	50	0.013	0.017	0.002	0.00	.07
	Asfixia por sumersión	11	0.011	0.016	0.005	0.00	.05
	Traumatismo	26	0.014	0.026	0.005	0.00	.13
	Otras causas de muerte natural	42	0.010	0.014	0.002	0.00	.07
	Total	152	0.011	0.018	0.001	0.00	.13
AUTM TT MEDIA EXT	Asfixia por ahorcadura	23	7.982	13.714	2.860	0.00	53.51
	Infarto de miocardio	50	13.903	15.326	2.167	0.00	50.17
	Asfixia por sumersión	11	14.663	16.762	5.054	0.00	42.10
	Traumatismo	26	16.641	29.210	5.728	0.00	145.68
	Otras causas de muerte natural	42	11.467	12.828	1.979	0.00	40.04
	Total	152	12.857	17.759	1.440	0.00	145.68

AUTM TT MEDIA INT= Cuantitativo cTnT media Intensidad

AUTM TT MEDIA EXT= Cuantitativo cTnT media Extensión

Tabla 28b. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT APEX INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	17	0.021	0.024	0.006	0.00	.08
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.012	0.016	0.004	0.00	.05
	Total	33	0.017	0.020	0.004	0.00	.08
AUTM TT APEX EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	17	25.240	19.119	4.637	0.00	50.91
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	17.032	17.355	4.339	0.00	44.82
	Total	33	21.260	18.475	3.216	0.00	50.91
AUTM TT IT INT	Asfixia por ahorcadura	23	0.002	0.006	0.001	0.00	.03
	Infarto de miocardio	49	0.009	0.024	0.003	0.00	.14
	Asfixia por sumersión	11	0.001	0.004	0.001	0.00	.01
	Traumatismo	24	0.010	0.028	0.006	0.00	.11
	Otras causas de muerte natural	42	0.007	0.016	0.002	0.00	.06
	Total	149	0.007	0.020	0.002	0.00	.14
AUTM TT IT EXT	Asfixia por ahorcadura	22	8.045	15.192	3.239	0.00	54.00
	Infarto de miocardio	49	11.353	15.859	2.266	0.00	57.87
	Asfixia por sumersión	11	14.818	17.209	5.189	0.00	42.00
	Traumatismo	22	13.864	19.633	4.186	0.00	62.00
	Otras causas de muerte natural	39	10.352	15.704	2.515	-.10	47.77
	Total	143	11.224	16.336	1.366	-.10	62.00
AUTM TTIVIP INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.009	0.021	0.005	0.00	.07
	Infarto de miocardio	46	0.015	0.026	0.004	0.00	.13
	Asfixia por sumersión	2	0.012	0.016	0.012	0.00	.02
	Traumatismo	13	0.016	0.025	0.007	0.00	.08
	Otras causas de muerte natural	41	0.008	0.017	0.003	0.00	.07
	Total	118	0.012	0.022	0.002	0.00	.13

RESULTADOS

Tabla 28c. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT IVIP EXT	Asfixia por ahorcadura	14	9.286	19.000	5.078	0.00	50.00
	Infarto de miocardio	43	16.038	19.964	3.044	0.00	61.00
	Asfixia por sumersión	2	14.500	20.506	14.500	0.00	29.00
	Traumatismo	13	15.308	19.687	5.460	0.00	47.00
	Otras causas de muerte natural	39	11.047	16.607	2.659	0.00	50.34
	Total	111	13.320	18.534	1.759	0.00	61.00
AUTM TT IVIL INT	Asfixia por ahorcadura	18	0.002	0.006	0.001	0.00	.03
	Infarto de miocardio	47	0.015	0.030	0.004	0.00	.14
	Asfixia por sumersión	6	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	20	0.002	0.007	0.002	0.00	.03
	Otras causas de muerte natural	40	0.018	0.076	0.012	0.00	.48
	Total	131	0.012	0.046	0.004	0.00	.48
AUTM TT IVIL EXT	Asfixia por ahorcadura	17	4.882	9.493	2.302	0.00	33.00
	Infarto de miocardio	39	16.496	19.359	3.100	0.00	58.00
	Asfixia por sumersión	3	7.000	12.124	7.000	0.00	21.00
	Traumatismo	16	7.250	10.884	2.721	0.00	31.00
	Otras causas de muerte natural	33	11.228	17.109	2.978	0.00	51.15
	Total	108	11.425	16.517	1.589	0.00	58.00
AUTM TT IVID INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	17	0.021	0.027	0.007	0.00	.09
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	0.008	0.012	0.003	0.00	.05
	Total	35	0.014	0.022	0.004	0.00	.09
AUTM TT IVID EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	20.166	21.266	5.012	0.00	50.05
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	11.531	14.471	3.411	0.00	38.33
	Total	36	15.849	18.454	3.076	0.00	50.05

Tabla 28d. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de

diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT SVIP INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	0.022	0.033	0.008	0.00	.12
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	15	0.007	0.011	0.003	0.00	.04
	Total	34	0.015	0.026	0.005	0.00	.12
AUTM TT SVIP EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	18.731	19.728	4.526	0.00	53.91
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	15	13.274	15.099	3.898	0.00	40.07
	Total	34	16.323	17.792	3.051	0.00	53.91
AUTM TT SVD INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.003	0.012	0.003	0.00	.05
	Infarto de miocardio	46	0.014	0.038	0.006	0.00	.23
	Asfixia por sumersión	2	0.016	0.023	0.016	0.00	.03
	Traumatismo	13	0.005	0.013	0.004	0.00	.05
	Otras causas de muerte natural	41	0.008	0.013	0.002	0.00	.05
	Total	118	0.010	0.026	0.002	0.00	.23
AUTM TTSVD EXT	Asfixia por ahorcadura	16	2.250	7.716	1.929	0.00	31.00
	Infarto de miocardio	44	15.558	18.998	2.864	0.00	52.17
	Asfixia por sumersión	2	16.500	23.335	16.500	0.00	33.00
	Traumatismo	11	8.636	14.137	4.262	0.00	43.00
	Otras causas de muerte natural	40	14.472	15.750	2.490	0.00	49.61
	Total	113	12.632	16.657	1.567	0.00	52.17
AUTM TT SVID INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	0.012	0.016	0.004	0.00	.05
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.011	0.023	0.005	0.00	.09
	Total	35	0.012	0.019	0.003	0.00	.09

RESULTADOS

Tabla 28e. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT SVID EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	17.176	18.307	4.315	0.00	56.94
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	13.522	18.197	4.413	0.00	48.82
	Total	35	15.401	18.079	3.056	0.00	56.94
AUTM TT IVD INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	0.014	0.019	0.005	0.00	.08
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.012	0.019	0.005	0.00	.07
	Total	35	0.013	0.019	0.003	0.00	.08
AUTM TT IVD EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	20.153	20.171	4.754	0.00	52.88
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	18.489	18.727	4.542	0.00	49.59
	Total	35	19.345	19.214	3.248	0.00	52.88
AUTM TT SVIL INT	Asfixia por ahorcadura	1	0.000			0.00	0.00
	Infarto de miocardio	1	0.000			0.00	0.00
	Asfixia por sumersión	2	0.008	0.009	0.007	.00	.01
	Traumatismo	3	0.044	0.073	0.042	0.00	.13
	Otras causas de muerte natural	1	0.030			.03	.03
	Total	8	0.022	0.044	0.016	0.00	.13
AUTM TT SVIL EXT	Asfixia por ahorcadura	1	0.000			0.00	0.00
	Infarto de miocardio	1	0.000			0.00	0.00
	Asfixia por sumersión	2	18.894	12.475	8.821	10.07	27.72
	Traumatismo	3	18.986	24.749	14.289	0.00	46.98
	Otras causas de muerte natural	1	37.368			37.37	37.37
	Total	8	16.514	18.480	6.534	0.00	46.98

Leyenda tabla 28

AUTOM TROP T APEX INT= Automatico cTnT Apex Intensidad
AUT TROP T APEX EXT = Automatico cTnT Apex Extensión
AUTM TROP T IT INTENS = Automatico cTnT tabique interventricular Intensidad
AUTM TROP T IT EXT = Automatico cTnT tabique interventricular Extensión
AUTM TROP T IVIP INT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad
AUTM TROP T IVIP EXT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión
AUTM TT IVIL INT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad
AUTM IVIL TT EXTNS = Automatico cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral extensión
AUTM TT IVID INT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad
AUTM TT IVID EXT= Automatico cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Extensión
AUTM TT SVIP INT = Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad
AUTM TT SVIP EXT= Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión
AUTM TT SVD INT = Automatico cTnT área superior del ventrículo derecho Intensidad
AUTM TT SVD EXT= Automatico cTnT área superior del ventrículo derecho Extensión
AUTM TT SVID INT= Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad
AUTM TT SVID EXT= Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara distal extensión
AUTM TT IVD INT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo derecho Intensidad
AUTM TT IVD EXT= Automatico cTnT área inferior del ventrículo derecho Extensión
AUTM TT SVIL INT = Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad
AUTM TT SVIL EXT = Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión
AUTM TT IVD INT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo derecho Intensidad
AUTM TT IVD EXT = Automatico cTnT área inferior del ventrículo derecho Extensión
AUTM TT SVIL INT = Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad
AUTM TT SVIL EXT = Automatico cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

RESULTADOS

Tabla 29. Valoración semicuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Etiología1	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MANUAL TI MEDIA INTENS	Natural	33	2.6552	0.331	0.058	1.77	3.00
	Suicida	10	2.7280	0.316	0.100	2.12	3.00
	Accidental	26	2.8950	0.246	0.048	2.00	3.00
	Total	69	2.7561	0.316	0.038	1.77	3.00
MANUAL TI MEDIA EXTENS	Natural	33	2.7924	0.272	0.047	2.00	3.00
	Suicida	10	2.9500	0.158	0.050	2.50	3.00
	Accidental	26	2.8219	0.371	0.073	2.00	3.00
	Total	69	2.8264	0.302	0.036	2.00	3.00

MANUAL TI MEDIA INTENS= Semicuantitativo cTnI media Intensidad

MANUAL TI MEDIA EXTENS = Semicuantitativo cTnI media Extensión

Tabla 30a. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Etiología1	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTOM TRP I MED INT	Natural	33	.1117	0.084	0.015	.01	.43
	Suicida	11	.0946	0.057	0.017	0.00	.18
	Accidental	27	.1121	0.080	0.015	.03	.38
	Total	71	.1092	0.078	0.009	0.00	.43
AUTOM TROP I MED EXT	Natural	33	53.3103	9.867	1.718	18.65	65.93
	Suicida	11	50.2645	18.383	5.543	0.00	64.65
	Accidental	27	57.7744	5.618	1.081	44.89	65.35
	Total	71	54.5361	10.589	1.257	0.00	65.93

AUTOM TRP I MED INT = Cuantitativo cTnI Intensidad

AUTOM TROP I MED EXT = Cuantitativo cTnI Extensión

Tabla 30b. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos							
Variable	Etiología	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTOM TROP I APEX INT	Natural	28	.1964	0.444	0.084	.03	2.42
	Suicida	2	.0845	0.093	0.066	.02	.15
	Accidental	6	.0673	0.025	0.010	.04	.09
	Total	36	.1687	0.394	0.066	.02	2.42
AUT TROP I APEX EXT	Natural	28	61.0961	11.673	2.206	27.47	76.41
	Suicida	2	56.8900	14.368	10.160	46.73	67.05
	Accidental	6	62.9783	2.466	1.007	60.10	65.56
	Total	36	61.1761	10.653	1.776	27.47	76.41
AUTM TROP I IT INTENS	Natural	32	.1021	0.122	0.022	.02	.61
	Suicida	10	.1156	0.089	0.028	.05	.35
	Accidental	24	.0938	0.058	0.012	.03	.24
	Total	66	.1011	0.097	0.012	.02	.61
AUTM TROP I IT EXT	Natural	32	60.6909	8.232	1.455	37.72	78.58
	Suicida	10	65.9540	4.770	1.508	60.40	72.91
	Accidental	24	64.3517	5.804	1.185	52.34	77.87
	Total	66	62.8195	7.211	0.888	37.72	78.58
AUTM TROP I VIP INT	Natural	28	.0923	0.070	0.013	.01	.26
	Suicida	2	.0545	0.021	0.015	.04	.07
	Accidental	5	.0638	0.023	0.010	.04	.10
	Total	35	.0861	0.065	0.011	.01	.26
AUTM TROP I VIP EXT	Natural	28	59.8975	9.882	1.868	33.62	76.76
	Suicida	2	58.4100	4.497	3.180	55.23	61.59
	Accidental	5	61.4660	4.418	1.976	57.20	66.62
	Total	35	60.0366	8.995	1.520	33.62	76.76
AUTM TI IVIL INT	Natural	32	.1144	0.100	0.018	.01	.44
	Suicida	7	.0971	0.059	0.022	.04	.20
	Accidental	15	.1566	0.172	0.044	.05	.68
	Total	54	.1239	0.121	0.016	.01	.68
AUTM IVIL TI EXTNS	Natural	32	59.1703	13.203	2.334	23.70	80.74
	Suicida	7	58.6771	14.999	5.669	26.36	71.98
	Accidental	15	64.8700	6.628	1.711	53.27	78.15
	Total	54	60.6896	12.079	1.644	23.70	80.74
AUTM TI IVIL INT	Natural	29	.0759	0.069	0.013	.00	.38
	Suicida	2	.2120	0.171	0.121	.09	.33
	Accidental	5	.1308	0.094	0.042	.07	.30
	Total	36	.0911	0.083	0.014	.00	.38
AUTM TI IVIL EXT	Natural	29	56.3469	15.038	2.792	4.84	76.63
	Suicida	2	65.1950	5.933	4.195	61.00	69.39
	Accidental	5	65.3300	4.571	2.044	59.91	71.97
	Total	36	58.0861	14.042	2.340	4.84	76.63

RESULTADOS

Tabla 30c. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos							
Variable	Etiología	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TI SVIP INT	Natural	28	.0921	0.083	0.016	.00	.38
	Suicida	2	.0795	0.011	0.008	.07	.09
	Accidental	5	.0768	0.035	0.016	.03	.11
	Total	35	.0892	0.075	0.013	.00	.38
AUTM TI SVIP EXT	Natural	28	58.1896	15.961	3.016	3.19	75.32
	Suicida	2	62.8750	4.617	3.265	59.61	66.14
	Accidental	5	62.8000	3.197	1.430	58.05	66.54
	Total	35	59.1160	14.411	2.436	3.19	75.32
AUTM TI SVD INT	Natural	29	.1639	0.261	0.048	.01	1.36
	Suicida	2	.0795	0.036	0.026	.05	.11
	Accidental	6	.1443	0.122	0.050	.05	.32
	Total	37	.1562	0.236	0.039	.01	1.36
AUTM TI SVD EXT	Natural	29	59.4507	15.222	2.827	4.32	80.46
	Suicida	2	32.9700	28.709	20.300	12.67	53.27
	Accidental	6	65.3467	5.169	2.110	60.24	73.91
	Total	37	58.9754	15.854	2.606	4.32	80.46
AUTM TI SVID INT	Natural	29	.0867	0.053	0.010	.01	.23
	Suicida	2	.1945	0.135	0.096	.10	.29
	Accidental	6	.1303	0.143	0.058	.03	.41
	Total	37	.0996	0.080	0.013	.01	.41
AUTM TI SVID EXT	Natural	29	57.4055	12.760	2.369	13.33	74.57
	Suicida	2	52.3200	16.956	11.990	40.33	64.31
	Accidental	6	56.9350	9.802	4.002	39.77	66.03
	Total	37	57.0543	12.219	2.009	13.33	74.57
AUTM TI IVD INT	Natural	28	.0919	0.058	0.011	.01	.24
	Suicida	1	.0300			.03	.03
	Accidental	6	.1085	0.072	0.030	.04	.23
	Total	35	.0929	0.060	0.010	.01	.24
AUTM TI IVD EXT	Natural	28	61.7596	7.780	1.470	33.21	71.35
	Suicida	1	52.8000			52.80	52.80
	Accidental	6	61.9750	8.000	3.266	47.32	71.02
	Total	35	61.5406	7.733	1.307	33.21	71.35
AUTM TI SVIL INT	Natural	1	.0780			.08	.08
	Suicida	1	.0770			.08	.08
	Accidental	5	.1360	0.099	0.044	.04	.28
	Total	7	.1193	0.086	0.033	.04	.28
AUTM TI SVIL EXT	Natural	1	62.1700			62.17	62.17
	Suicida	1	64.3900			64.39	64.39
	Accidental	5	61.9600	16.508	7.383	33.55	76.02
	Total	7	62.3371	13.509	5.106	33.55	76.02

Leyenda tabla 30.

AUTOM TROP I APEX INT= Automatico cTnI Apex Intensidad

AUT TROP I APEX EXT = Automatico cTnI Apex Extensión

AUTM TROP I IT INTENS = Automatico cTnI tabique interventricular Intensidad

AUTM TROP I IT EXT = Automatico cTnI tabique interventricular Extensión

AUTM TROP I IVIP INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TROP I IVIP EXT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TI IVIL INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM IVIL TI EXTNS = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral extensión

AUTM TI IVID INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TI IVID EXT= Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Extensión

AUTM TI SVIP INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TI SVIP EXT= Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TI SVD INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI SVD EXT= Automatico cTnI área superior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVID INT= Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TI SVID EXT= Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara distal extensión

AUTM TI IVD INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI IVD EXT= Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVIL INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TI SVIL EXT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

AUTM TI IVD INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI IVD EXT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVIL INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TI SVIL EXT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

RESULTADOS

Tabla 31. Valoración semicuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MAN TROP T MEDIA INT	Asfixia por ahorcadura	23	0.554	0.917	0.191	0.00	3.00
	Infarto de miocardio	50	1.201	1.050	0.149	0.00	3.00
	Asfixia por sumersión	11	1.023	1.003	0.302	0.00	3.00
	Traumatismo	25	0.967	0.839	0.168	0.00	2.67
	Otras causas de muerte natural	42	0.997	1.013	0.156	0.00	3.00
	Total	151	0.994	0.994	0.081	0.00	3.00
MANTROP T MEDIA EXTEN	Asfixia por ahorcadura	23	0.598	0.965	0.201	0.00	3.00
	Infarto de miocardio	50	1.190	1.025	0.145	0.00	3.00
	Asfixia por sumersión	11	1.068	0.895	0.270	0.00	2.00
	Traumatismo	25	1.127	0.920	0.184	0.00	2.50
	Otras causas de muerte natural	42	0.959	0.910	0.140	0.00	2.62
	Total	151	1.016	0.967	0.079	0.00	3.00

MAN TROP T MEDIA INT = Semicuantitativo I cTnT media Intensidad

MANTROP T MEDIA EXTEN = Semicuantitativo cTnT media Extensión

Tabla 32a. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Etiología ¹	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT MEDIA INT	Natural	33	.0150	0.017	0.003	0.00	.07
	Suicida	10	.0161	0.027	0.009	0.00	.09
	Accidental	27	.0169	0.029	0.006	0.00	.13
	Total	70	.0159	0.023	0.003	0.00	.13
AUTM TT MEDIA EXT	Natural	33	18.0665	16.254	2.829	0.00	50.17
	Suicida	10	17.0690	16.387	5.182	0.00	53.51
	Accidental	27	19.8645	29.909	5.756	0.00	145.68
	Total	70	18.6175	22.265	2.661	0.00	145.68

AUTM TT MEDIA INT= Cuantitativo cTnT media de intensidad

AUTM TT MEDIA EXT= Cuantitativo cTnT media de extensión

Tabla 32b. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos							
Variable	Etiología ¹	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT APEX INT	Natural	25	0.020	0.022	0.004	0.00	.08
	Suicida	2	0.002	0.001	0.001	.00	.00
	Accidental	6	0.005	0.008	0.003	0.00	.02
	Total	33	0.017	0.020	0.004	0.00	.08
AUTM TT APEX EXT	Natural	25	25.155	18.438	3.688	0.00	50.91
	Suicida	2	4.418	6.248	4.418	0.00	8.84
	Accidental	6	10.647	14.841	6.059	0.00	34.87
	Total	33	21.260	18.475	3.216	0.00	50.91
AUTM TT IT INT	Natural	32	0.012	0.028	0.005	0.00	.14
	Suicida	10	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	26	0.001	0.003	0.001	0.00	.02
	Total	68	0.006	0.020	0.002	0.00	.14
AUTM TT IT EXT	Natural	32	15.008	18.352	3.244	0.00	57.87
	Suicida	10	15.791	19.226	6.080	-.10	54.00
	Accidental	26	12.495	15.412	3.023	0.00	46.00
	Total	68	14.162	17.203	2.086	-.10	57.87
AUTM TTIVIP INT	Natural	29	0.016	0.023	0.004	0.00	.07
	Suicida	2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	6	0.017	0.024	0.010	0.00	.05
	Total	37	0.016	0.022	0.004	0.00	.07
AUTM TTIVIP EXT	Natural	29	18.762	19.467	3.615	0.00	50.89
	Suicida	2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	6	19.566	22.887	9.343	0.00	50.34
	Total	37	17.878	19.656	3.231	0.00	50.89
AUTM TTIVIL INT	Natural	30	0.019	0.030	0.005	0.00	.11
	Suicida	5	0.002	0.004	0.002	0.00	.01
	Accidental	15	0.034	0.123	0.032	0.00	.48
	Total	50	0.022	0.070	0.010	0.00	.48
AUTM TTIVIL EXT	Natural	22	25.262	18.677	3.982	0.00	51.16
	Suicida	4	16.041	7.768	3.884	7.00	25.00
	Accidental	8	20.744	18.514	6.546	0.00	51.15
	Total	34	23.114	17.626	3.023	0.00	51.16
AUTM TTIVID INT	Natural	27	0.014	0.023	0.004	0.00	.09
	Suicida	2	0.008	0.011	0.008	0.00	.02
	Accidental	6	0.017	0.017	0.007	0.00	.05
	Total	35	0.014	0.022	0.004	0.00	.09
AUTM TTIVID EXT	Natural	28	16.436	19.316	3.650	0.00	50.05
	Suicida	2	0.624	0.882	0.624	0.00	1.25
	Accidental	6	18.185	16.361	6.679	0.00	38.33
	Total	36	15.849	18.454	3.076	0.00	50.05

RESULTADOS

Tabla 32c. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos							
Variable	Etiología ¹	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT SVIP INT	Natural	29	0.017	0.028	0.005	0.00	.12
	Suicida	2	0.006	0.008	0.006	0.00	.01
	Accidental	3	0.006	0.009	0.005	0.00	.02
	Total	34	0.015	0.026	0.005	0.00	.12
AUTM TT SVIP EXT	Natural	29	16.711	18.239	3.387	0.00	53.91
	Suicida	2	13.024	18.419	13.024	0.00	26.05
	Accidental	3	14.779	19.490	11.253	0.00	36.87
	Total	34	16.323	17.792	3.051	0.00	53.91
AUTM TT SVD INT	Natural	29	0.019	0.043	0.008	0.00	.23
	Suicida	2	0.026	0.036	0.026	0.00	.05
	Accidental	6	0.012	0.018	0.007	0.00	.05
	Total	37	0.018	0.039	0.006	0.00	.23
AUTM TT SVD EXT	Natural	29	22.018	17.076	3.171	0.00	52.17
	Suicida	2	24.807	35.082	24.807	0.00	49.61
	Accidental	6	21.552	18.055	7.371	0.00	43.24
	Total	37	22.093	17.513	2.879	0.00	52.17
AUTM TT SVID INT	Natural	27	0.012	0.021	0.004	0.00	.09
	Suicida	2	0.001	0.001	0.001	0.00	.00
	Accidental	6	0.012	0.014	0.006	0.00	.03
	Total	35	0.012	0.019	0.003	0.00	.09
AUTM TT SVID EXT	Natural	27	16.485	18.618	3.583	0.00	56.94
	Suicida	2	0.165	0.233	0.165	0.00	.33
	Accidental	6	15.602	17.907	7.311	0.00	38.40
	Total	35	15.401	18.079	3.056	0.00	56.94
AUTM TT IVD INT	Natural	27	0.013	0.018	0.004	0.00	.08
	Suicida	2	0.003	0.004	0.003	0.00	.01
	Accidental	6	0.017	0.027	0.011	0.00	.07
	Total	35	0.013	0.019	0.003	0.00	.08
AUTM TT IVD EXT	Natural	27	19.401	19.457	3.744	0.00	52.88
	Suicida	2	13.334	18.857	13.334	0.00	26.67
	Accidental	6	21.096	21.276	8.686	0.00	49.59
	Total	35	19.345	19.214	3.248	0.00	52.88
AUTM TT SVIL INT	Natural	1	0.000			0.00	0.00
	Suicida	1	0.030			.03	.03
	Accidental	5	0.029	0.056	0.025	0.00	.13
	Total	7	0.025	0.047	0.018	0.00	.13
AUTM TT SVIL EXT	Natural	1	0.000			0.00	0.00
	Suicida	1	37.368			37.37	37.37
	Accidental	5	18.949	18.578	8.309	0.00	46.98
	Total	7	18.873	18.614	7.035	0.00	46.98

Tabla 33. Valoración semicuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MANUAL TI MEDIA INTENS	Infarto	20	2.685	0.334	0.075	2.00	3.00
	Traumatismo	11	2.867	0.302	0.091	2.00	3.00
	Asfixia	13	2.729	0.368	0.102	1.77	3.00
	Otras causas muerte	16	2.747	0.296	0.074	2.00	3.00
	Total	60	2.745	0.324	0.042	1.77	3.00
MANUAL TI MEDIA EXTENS	Infarto	20	2.803	0.313	0.070	2.00	3.00
	Traumatismo	11	2.727	0.467	0.141	2.00	3.00
	Asfixia	13	2.885	0.300	0.083	2.00	3.00
	Otras causas muerte	16	2.841	0.184	0.046	2.37	3.00
	Total	60	2.817	0.313	0.040	2.00	3.00

MANUAL TI MEDIA INTENS= Semicuantitativo I cTnI media Intensidad

MANTROP TI MEDIA EXTEN = Semicuantitativo cTnI media Extensión

Tabla 34a. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTOM TRP I MED INT	Infarto	20	0.113	0.055	0.012	.05	.25
	Traumatismo	11	0.121	0.066	0.020	.05	.26
	Asfixia	15	0.111	0.108	0.028	0.00	.38
	Otras causas muerte	16	0.095	0.093	0.023	.01	.43
	Total	62	0.109	0.081	0.010	0.00	.43
AUTOM TROP I MED EXT	Infarto	20	55.611	4.449	0.995	48.56	64.20
	Traumatismo	11	59.247	4.504	1.358	51.64	64.19
	Asfixia	15	49.223	18.385	4.747	0.00	65.35
	Otras causas muerte	16	52.418	9.879	2.470	18.65	63.99
	Total	62	53.886	11.097	1.409	0.00	65.35

AUTOM TRP I MED INT= Cuantitativo cTnI media de Intensidad

AUTOM TROP I MED EXT= Cuantitativo cTnI media de Extensión

RESULTADOS

Tabla 34b. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTOM TROP I APEX INT	Infarto	15	0.125	0.101	0.026	.03	.43
	Traumatismo	3	0.050	0.017	0.010	.04	.07
	Asfixia	6	0.133	0.090	0.037	.02	.24
	Otras causas muerte	11	0.289	0.707	0.213	.03	2.42
	Total	35	0.172	0.399	0.068	.02	2.42
AUT TROP I APEX EXT	Infarto	15	63.633	9.944	2.568	40.81	76.41
	Traumatismo	3	58.907	2.844	1.642	55.66	60.96
	Asfixia	6	56.255	16.256	6.637	27.47	69.40
	Otras causas muerte	11	60.639	9.833	2.965	36.87	72.93
	Total	35	61.022	10.768	1.820	27.47	76.41
AUTM TROP I IT INTENS	Infarto	19	0.100	0.103	0.024	.03	.41
	Traumatismo	9	0.104	0.071	0.024	.04	.24
	Asfixia	13	0.066	0.032	0.009	.02	.14
	Otras causas muerte	15	0.112	0.144	0.037	.03	.61
	Total	56	0.096	0.100	0.013	.02	.61
AUTM TROP I IT EXT	Infarto	19	61.112	6.816	1.564	46.20	72.91
	Traumatismo	9	66.603	5.566	1.855	59.21	77.87
	Asfixia	13	62.045	9.242	2.563	37.72	71.06
	Otras causas muerte	15	61.083	7.481	1.932	51.02	78.58
	Total	56	62.203	7.518	1.005	37.72	78.58
AUTM TROP I IVIP INT	Infarto	15	0.104	0.077	0.020	.03	.26
	Traumatismo	3	0.070	0.023	0.013	.05	.09
	Asfixia	5	0.067	0.040	0.018	.01	.11
	Otras causas muerte	11	0.076	0.065	0.020	.03	.24
	Total	34	0.087	0.065	0.011	.01	.26
AUTM TROP I IVIP EXT	Infarto	15	63.269	7.665	1.979	51.03	76.76
	Traumatismo	3	59.580	1.958	1.131	57.32	60.77
	Asfixia	5	55.174	13.232	5.918	33.62	66.62
	Otras causas muerte	11	58.099	9.495	2.863	40.43	73.56
	Total	34	60.080	9.127	1.565	33.62	76.76

Tabla 34c. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos							
Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TI IVIL INT	Infarto	18	0.140	0.120	0.028	.04	.44
	Traumatismo	7	0.114	0.121	0.046	.05	.39
	Asfixia	9	0.158	0.208	0.069	.02	.68
	Otras causas muerte	15	0.103	0.063	0.016	.01	.26
	Total	49	0.128	0.126	0.018	.01	.68
AUTM IVIL TI EXTNS	Infarto	18	61.697	11.170	2.633	31.76	80.74
	Traumatismo	7	64.411	4.715	1.782	58.02	70.90
	Asfixia	9	57.977	16.440	5.480	26.36	78.15
	Otras causas muerte	15	57.410	13.857	3.578	23.70	73.66
	Total	49	60.089	12.442	1.777	23.70	80.74
AUTM TI IVID INT	Infarto	15	0.102	0.108	0.028	.02	.38
	Traumatismo	2	0.085	0.001	0.001	.08	.09
	Asfixia	5	0.110	0.110	0.049	.00	.30
	Otras causas muerte	13	0.072	0.045	0.012	.01	.17
	Total	35	0.091	0.085	0.014	.00	.38
AUTM TI IVID EXT	Infarto	15	60.626	7.365	1.902	46.16	76.63
	Traumatismo	2	61.410	2.121	1.500	59.91	62.91
	Asfixia	5	50.272	25.993	11.624	4.84	68.00
	Otras causas muerte	13	57.988	15.789	4.379	7.53	71.97
	Total	35	58.212	14.227	2.405	4.84	76.63
AUTM TI SVIP INT	Infarto	14	0.112	0.091	0.024	.03	.38
	Traumatismo	3	0.073	0.036	0.021	.05	.11
	Asfixia	4	0.093	0.066	0.033	.01	.17
	Otras causas muerte	13	0.071	0.068	0.019	.00	.28
	Total	34	0.091	0.076	0.013	.00	.38

RESULTADOS

Tabla 34d. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TI SVIP EXT	Infarto	14	63.784	8.396	2.244	47.32	75.32
	Traumatismo	3	61.697	3.797	2.192	57.38	64.52
	Asfixia	4	54.355	25.873	12.937	16.35	70.80
	Otras causas muerte	13	55.117	17.028	4.723	3.19	73.22
	Total	34	59.176	14.623	2.508	3.19	75.32
AUTM TI SVD INT	Infarto	15	0.130	0.114	0.030	.02	.37
	Traumatismo	3	0.070	0.022	0.013	.05	.09
	Asfixia	5	0.368	0.565	0.253	.01	1.36
	Otras causas muerte	13	0.092	0.070	0.019	.01	.29
	Total	36	0.145	0.228	0.038	.01	1.36
AUTM TI SVD EXT	Infarto	15	62.000	10.510	2.714	43.41	80.20
	Traumatismo	3	60.723	1.552	0.896	59.47	62.46
	Asfixia	5	46.040	34.900	15.608	4.32	80.46
	Otras causas muerte	13	58.807	10.715	2.972	28.81	73.91
	Total	36	58.524	15.836	2.639	4.32	80.46
AUTM TI SVID INT	Infarto	15	0.111	0.070	0.018	.03	.29
	Traumatismo	3	0.185	0.198	0.114	.06	.41
	Asfixia	5	0.111	0.073	0.033	.04	.23
	Otras causas muerte	13	0.063	0.038	0.010	.01	.12
	Total	36	0.100	0.081	0.013	.01	.41
AUTM TI SVID EXT	Infarto	15	59.844	8.267	2.134	40.33	74.57
	Traumatismo	3	51.607	10.761	6.213	39.77	60.80
	Asfixia	5	54.812	19.181	8.578	22.29	69.06
	Otras causas muerte	13	55.220	13.992	3.881	13.33	66.03
	Total	36	56.789	12.284	2.047	13.33	74.57
AUTM TI IVD INT	Infarto	14	0.093	0.044	0.012	.02	.17
	Traumatismo	3	0.075	0.059	0.034	.04	.14
	Asfixia	5	0.124	0.103	0.046	.03	.24
	Otras causas muerte	12	0.088	0.061	0.018	.01	.21
	Total	34	0.094	0.061	0.010	.01	.24

Tabla 34e. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TI IVD EXT	Infarto	14	62.726	5.399	1.443	52.36	71.35
	Traumatismo	3	62.403	2.580	1.490	60.42	65.32
	Asfixia	5	62.446	8.184	3.660	52.80	71.02
	Otras causas muerte	12	59.412	10.827	3.125	33.21	70.96
	Total	34	61.486	7.843	1.345	33.21	71.35
AUTM TI SVIL INT	Infarto	1	0.106			.11	.11
	Traumatismo	3	0.182	0.099	0.057	.08	.28
	Asfixia	1	0.042			.04	.04
	Otras causas muerte	1	0.046			.05	.05
	Total	6	0.123	0.092	0.038	.04	.28
AUTM TI SVIL EXT	Infarto	1	67.050			67.05	67.05
	Traumatismo	3	69.410	6.946	4.011	62.17	76.02
	Asfixia	1	33.550			33.55	33.55
	Otras causas muerte	1	65.500			65.50	65.50
	Total	6	62.388	14.883	6.076	33.55	76.02

Leyenda table 34.

AUTOM TROP I APEX INT= Automatico cTnI Apex Intensidad

AUT TROP I APEX EXT = Automatico cTnI Apex Extensión

AUTM TROP I IT INTENS = Automatico cTnI tabique interventricular Intensidad

AUTM TROP I IT EXT = Automatico cTnI tabique interventricular Extensión

AUTM TROP I IVIP INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TROP I IVIP EXT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TI IVIL INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM IVIL TI EXTNS = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral extensión

AUTM TI IVID INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TI IVID EXT= Automatico cTnI área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Extensión

AUTM TI SVIP INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TI SVIP EXT= Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TI SVD INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI SVD EXT= Automatico cTnI área superior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVID INT= Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TI SVID EXT= Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara distal extensión

AUTM TI IVD INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI IVD EXT= Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVIL INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TI SVIL EXT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

AUTM TI IVD INT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TI IVD EXT = Automatico cTnI área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TI SVIL INT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TI SVIL EXT = Automatico cTnI área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

RESULTADOS

Tabla 35. Valoración semicuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MAN TROP T MEDIA INT	Infarto	20	1.221	0.953	0.213	0.00	2.77
	Traumatismo	11	1.144	0.825	0.249	0.00	2.00
	Asfixia	13	1.137	1.117	0.310	0.00	3.00
	Otras causas muerte	16	1.386	0.962	0.240	0.00	2.66
	Total	60	1.233	0.952	0.123	0.00	3.00
MANTROP T MEDIA EXTEN	Infarto	20	1.239	1.009	0.226	0.00	2.77
	Traumatismo	11	1.165	0.837	0.252	0.00	2.50
	Asfixia	13	1.318	1.168	0.324	0.00	3.00
	Otras causas muerte	16	1.458	0.975	0.244	0.00	3.00
	Total	60	1.301	0.988	0.128	0.00	3.00

MAN TROP T MEDIA INT = Semicuantitativo cTnT media Intensidad

MANTROP T MEDIA EXTEN = Semicuantitativo cTnT media Extensión

Tabla 36a. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT MEDIA INT	Infarto	20	0.015	0.020	0.004	0.00	.07
	Traumatismo	11	0.017	0.037	0.011	0.00	.13
	Asfixia	14	0.017	0.025	0.007	0.00	.09
	Otras causas muerte	16	0.019	0.021	0.005	0.00	.07
	Total	61	0.017	0.025	0.003	0.00	.13
AUTM TT MEDIA EXT	Infarto	20	17.522	17.295	3.867	0.00	47.52
	Traumatismo	11	23.803	42.794	12.903	0.00	145.68
	Asfixia	14	15.906	17.989	4.808	0.00	53.51
	Otras causas muerte	16	17.563	14.039	3.510	0.00	39.84
	Total	61	18.294	22.947	2.938	0.00	145.68

AUTM TT MEDIA INT= Cuantitativo cTnT media de intensidad

AUTM TT MEDIA EXT= Cuantitativo cTnT media de extensión

Tabla 36b. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos							
Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT APEX INT	Infarto	13	0.018	0.018	0.005	0.00	.05
	Traumatismo	3	0.010	0.018	0.010	0.00	.03
	Asfixia	5	0.034	0.030	0.013	.00	.08
	Otras causas muerte	11	0.010	0.017	0.005	0.00	.05
	Total	32	0.017	0.021	0.004	0.00	.08
AUTM TT APEX EXT	Infarto	13	25.631	19.506	5.410	0.00	50.91
	Traumatismo	3	11.662	20.199	11.662	0.00	34.99
	Asfixia	5	32.861	14.901	6.664	8.84	45.42
	Otras causas muerte	11	15.372	16.189	4.881	0.00	41.84
	Total	32	21.925	18.365	3.247	0.00	50.91
AUTM TT IT INT	Infarto	19	0.012	0.033	0.008	0.00	.14
	Traumatismo	9	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia	14	0.007	0.016	0.004	0.00	.06
	Otras causas muerte	16	0.005	0.011	0.003	0.00	.04
	Total	58	0.007	0.021	0.003	0.00	.14
AUTM TT IT EXT	Infarto	19	13.661	17.111	3.925	0.00	57.87
	Traumatismo	9	11.556	14.638	4.879	0.00	39.00
	Asfixia	14	13.774	20.180	5.393	-.10	54.00
	Otras causas muerte	16	13.915	16.860	4.215	0.00	46.00
	Total	58	13.432	17.055	2.239	-.10	57.87
AUTM TTIVIP INT	Infarto	15	0.020	0.025	0.007	0.00	.07
	Traumatismo	3	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia	5	0.030	0.029	0.013	0.00	.07
	Otras causas muerte	13	0.010	0.016	0.004	0.00	.05
	Total	36	0.016	0.023	0.004	0.00	.07

RESULTADOS

Tabla 36c. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos

Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT IVIP EXT	Infarto	15	21.097	22.022	5.686	0.00	50.89
	Traumatismo	3	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia	5	25.245	24.146	10.798	0.00	50.34
	Otras causas muerte	13	15.685	16.659	4.620	0.00	44.58
	Total	36	17.961	19.928	3.321	0.00	50.89
AUTM TT IVIL INT	Infarto	17	0.020	0.030	0.007	0.00	.11
	Traumatismo	7	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia	8	0.005	0.010	0.003	0.00	.03
	Otras causas muerte	15	0.048	0.122	0.032	0.00	.48
	Total	47	0.023	0.072	0.011	0.00	.48
AUTM TT IVIL EXT	Infarto	13	24.251	19.958	5.535	0.00	51.16
	Traumatismo	5	7.800	8.468	3.787	0.00	21.00
	Asfixia	5	20.524	13.583	6.075	7.31	41.23
	Otras causas muerte	9	32.777	16.872	5.624	.10	51.15
	Total	32	23.496	18.086	3.197	0.00	51.16
AUTM TT IVID INT	Infarto	14	0.015	0.020	0.005	0.00	.06
	Traumatismo	3	0.009	0.015	0.009	0.00	.03
	Asfixia	4	0.017	0.021	0.010	0.00	.05
	Otras causas muerte	13	0.015	0.027	0.007	0.00	.09
	Total	34	0.015	0.022	0.004	0.00	.09
AUTM TT IVID EXT	Infarto	14	18.930	19.819	5.297	0.00	47.25
	Traumatismo	3	4.199	6.571	3.794	0.00	11.77
	Asfixia	5	18.508	17.672	7.903	0.00	38.33
	Otras causas muerte	13	15.415	19.682	5.459	0.00	50.05
	Total	35	16.301	18.520	3.130	0.00	50.05
AUTM TT SVIP INT	Infarto	15	0.025	0.036	0.009	0.00	.12
	Traumatismo	2	0.002	0.001	0.001	.00	.00
	Asfixia	4	0.014	0.015	0.008	0.00	.04
	Otras causas muerte	12	0.007	0.010	0.003	0.00	.03
	Total	33	0.016	0.027	0.005	0.00	.12

Tabla 36d. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos							
Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT SVIP EXT	Infarto	15	20.281	20.874	5.390	0.00	53.91
	Traumatismo	2	6.358	1.572	1.112	5.25	7.47
	Asfixia	4	19.007	17.675	8.837	0.00	40.07
	Otras causas muerte	12	13.503	15.323	4.423	0.00	36.87
	Total	33	16.818	17.829	3.104	0.00	53.91
AUTM TT SVD INT	Infarto	15	0.028	0.058	0.015	0.00	.23
	Traumatismo	3	0.004	0.008	0.004	0.00	.01
	Asfixia	5	0.028	0.022	0.010	.00	.05
	Otras causas muerte	13	0.007	0.012	0.003	0.00	.04
	Total	36	0.019	0.040	0.007	0.00	.23
AUTM TTSVD EXT	Infarto	15	26.990	18.049	4.660	0.00	52.17
	Traumatismo	3	9.245	16.013	9.245	0.00	27.74
	Asfixia	5	29.844	19.408	8.680	8.20	49.61
	Otras causas muerte	13	18.126	14.757	4.093	0.00	45.25
	Total	36	22.707	17.353	2.892	0.00	52.17
AUTM TT SVID INT	Infarto	15	0.014	0.016	0.004	0.00	.05
	Traumatismo	3	0.004	0.003	0.002	.00	.01
	Asfixia	4	0.007	0.014	0.007	0.00	.03
	Otras causas muerte	12	0.014	0.027	0.008	0.00	.09
	Total	34	0.012	0.019	0.003	0.00	.09
AUTM TT SVID EXT	Infarto	15	20.656	19.347	4.995	0.00	56.94
	Traumatismo	3	3.319	5.630	3.250	0.00	9.82
	Asfixia	4	9.093	16.351	8.175	0.00	33.56
	Otras causas muerte	12	15.239	18.483	5.336	0.00	48.82
	Total	34	15.854	18.148	3.112	0.00	56.94

RESULTADOS

Tabla 36e. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos							
Variable	Etiología ²	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM TT IVD INT	Infarto	14	0.013	0.014	0.004	0.00	.04
	Traumatismo	3	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia	5	0.021	0.028	0.013	.00	.07
	Otras causas muerte	12	0.014	0.023	0.007	0.00	.08
	Total	34	0.013	0.019	0.003	0.00	.08
AUTM TT IVD EXT	Infarto	14	21.700	18.498	4.944	0.00	42.52
	Traumatismo	3	2.196	3.804	2.196	0.00	6.59
	Asfixia	5	24.717	21.606	9.662	.90	49.59
	Otras causas muerte	12	20.259	20.713	5.979	0.00	52.88
	Total	34	19.914	19.201	3.293	0.00	52.88
AUTM TT SVIL INT	Infarto	2	0.007	0.010	0.007	0.00	.01
	Traumatismo	3	0.044	0.073	0.042	0.00	.13
	Asfixia	1	0.000			0.00	0.00
	Otras causas muerte	0					
	Total	6	0.024	0.051	0.021	0.00	.13
AUTM TT SVIL EXT	Infarto	2	13.858	19.597	13.858	0.00	27.72
	Traumatismo	3	18.986	24.749	14.289	0.00	46.98
	Asfixia	1	0.000			0.00	0.00
	Otras causas muerte	0					
	Total	6	14.112	19.389	7.915	0.00	46.98

Leyenda tabla 36.

AUTM TROP T APEX INT= Automático cTnT Apex Intensidad

AUT TROP T APEX EXT = Automático cTnT Apex Extensión

AUTM TROP T IT INTENS = Automático cTnT tabique interventricular Intensidad

AUTM TROP T IT EXT = Automático cTnT tabique interventricular Extensión

AUTM TROP T IVIP INT = Automático cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TROP T IVIP EXT = Automático cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TT IVIL INT = Automático cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM IVIL TT EXTNS = Automático cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral extensión

AUTM TT IVID INT = Automático cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TT IVID EXT= Automático cTnT área inferior del ventrículo izquierdo cara distal Extensión

AUTM TT SVIP INT = Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Intensidad

AUTM TT SVIP EXT= Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara posterior Extensión

AUTM TT SVD INT = Automático cTnT área superior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TT SVD EXT= Automático cTnT área superior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TT SVID INT= Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara distal Intensidad

AUTM TT SVID EXT= Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara distal extensión

AUTM TT IVD INT = Automático cTnT área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TT IVD EXT= Automático cTnT área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TT SVIL INT = Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TT SVIL EXT = Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

AUTM TT IVD INT = Automático cTnT área inferior del ventrículo derecho Intensidad

AUTM TT IVD EXT = Automático cTnT área inferior del ventrículo derecho Extensión

AUTM TT SVIL INT = Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Intensidad

AUTM TT SVIL EXT = Automático cTnT área superior del ventrículo izquierdo cara lateral Extensión

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LOS MARCADORES HISTOLÓGICOS CARDÍACOS (cTnI y cTnT).

TROPONINAS.- cTnI y cTnT

En relación al análisis inmunohistoquímico semicuantitativo (manual) para ambas troponinas, el análisis estadístico realizado mediante χ^2 en cada una de las 10 zonas cardíacas analizadas no fue concluyente para distinguir entre causas de muerte, por ser el número de casillas con frecuencias bajas superior al 20%, máximo permitido. Si se pudo realizar para sus y valores cuantitativos y calculados y para las lecturas automáticas realizadas con el programa de análisis de imagen ImageJ.

En el análisis mediante los parámetros según estratificación diagnóstica en GRUPO 1 se obtuvieron significación estadística para las siguientes comparaciones por parejas de causas de muerte:

- “Otras causas de muerte natural” frente a “traumatismo”
 - o La lectura automática de cTnI de la media de Extensión fue estadísticamente significativo con (P= 0.005, test K-W) corregido a través del test U de Mann-Whitney (P= 0.030).
- “IM” frente a “Traumatismo”
 - o Mediante lectura automática de TnTc para la intensidad de expresión inmunohistoquímica en la zona IVIL fue significativo (P=0.044, K-W).
- “Asfixia por ahorcaduras” frente a IM
 - o La expresión inmunohistoquímica de TnTc fue estadísticamente significativo para la zona SVD en extensión (P= 0.037, test K-W).
- “Asfixia por ahorcadura” frente a “otras causas de muerte natural”
 - o La expresión inmunohistoquímica de TnTc fue significativo para la zona SVD (extensión) (P=0.018, test K-W).

En el análisis mediante los parámetros según estratificación diagnóstica en GRUPO 2 (accidental, suicida y causas naturales), se obtuvieron significación estadística para las siguientes comparaciones por parejas de causas de muerte:

Muerte “natural” frente a “accidental”.

- La intensidad de expresión inmunohistoquímica de cTnI valorada semicuantitativamente (P=0.002, test K-W) corregido a través del test U de Mann-Whitney con P=0.001

- Producto de Intens x Extens. Semicuantitativo de cTnI. (P= 0.006, Test KW) corregido a través del test U de Mann-Whitney con P= 0.004

Muerte “natural” frente “suicida”

- La extensión de la expresión inmunohistoquímica de cTnI valorada semicuantitativamente (P=0.025, test K-W) corregido a través del test U de Mann-Whitney con (P=0.045).
- La extensión de la expresión inmunohistoquímica de cTnI valorada cuantitativamente (sistema de análisis de imagen “Automático”) en la zona de IT (P=0.038, test K-W) corregido a través del test U de Mann-Whitney (P= 0.041).
- La intensidad de expresión inmunohistoquímica de cTnI valorada cuantitativamente en la zona de IT (P=0.001, test K-W), corregido a través del test U de Mann-Whitney (P=0.019).

En el mismo sentido para la troponina T la comparación entre parejas de causas muerte “natural” vs. muerte “accidental”

- La intensidad de expresión inmunohistoquímica de cTnT valorada cuantitativamente en la zona de IT (P=0.001, test K-W), corregido a través del test U de Mann-Whitney (P=0.007).
- La intensidad de expresión inmunohistoquímica de cTnT valorada cuantitativamente en la zona IVIL (P= 0.042, test K-W) con significación marginal una vez corregido a través del test U de Mann-Whitney (P=0.052).

No se observaron diferencias estadísticas significativas en los valores de las variables numéricas en la expresión de troponinas I o T cuando estos fueron analizados mediante la agrupación GRUPO 3 de diagnóstico.

Para las Troponinas tisulares la extensión de la inmunohistoquímica fue mejor parámetro que la intensidad a la hora de separar grupos.

cTnI: No se puede calcular el test chi-cuadrado para la determinación localizada de forma individualizada en cada uno de los 10 puntos diferentes cardíacos ya que en la valoración semicuantitativa utilizada el número de casillas con frecuencias bajas superó el máximo permitido del 20%. Por lo que habría que agrupar categorías para poder calcularlo. Las determinaciones también se realizaron cuantitativamente mediante software ImageJ.

TABLAS CON LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LOS MARCADORES HISTOLÓGICOS CARDÍACOS

Tabla 37. Valoración cuantitativa de cTnI para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos . Prueba de Chi-cuadrado

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
MANUAL TI MEDIA INTENS	7.690	4	.104	No
MANUAL TI MEDIA EXTENS	7.796	4	.099	No
MANUAL TI INTENS. X EXT	10,167	4	.038	Si
AUTOM TROP I MED EXT	14.849	4	.005	Si
AUTOM TROP I APEX INT	.302	2	.860	No
AUT TROP I APEX EXT	.417	2	.812	No
AUTM TROP I IT INTENS	1.866	4	.760	No
AUTM TROP I IT EXT	7.712	4	.103	No
AUTM TROP I IVIP INT	2.585	4	.629	No
AUTM TROP I IVIP EXT	5.691	4	.223	No
AUTM TI IVIL INT	.769	4	.943	No
AUTM IVIL TI EXTNS	4.802	4	.308	No
AUTM TI IVID INT	1.062	1	.303	No
AUTM TI IVID EXT	2.079	1	.149	No
AUTM TI SVIP INT	.654	1	.419	No
AUTM TI SVIP EXT	1.743	1	.187	No
AUTM TI SVD INT	5.315	4	.256	No
AUTM TI SVD EXT	8.528	4	.074	No
AUTM TI SVID INT	.316	1	.574	No
AUTM TI SVID EXT	.577	1	.447	No
AUTM TI IVD INT	.200	1	.655	No
AUTM TI IVD EXT	.001	1	.974	No
AUTM TI SVIL INT	4.222	4	.377	No
AUTM TI SVIL EXT	3.472	4	.482	No

(Leyenda en Tabla 37)

(Si) Si existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.

(No) No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas

RESULTADOS

Tabla 38. Valoración cuantitativa de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos . Prueba de Chi-cuadrado

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
AUTM TT MEDIA INT	5.045	4	.283	No
AUTM TT MEDIA EXT	4.746	4	.314	No
AUTM TT APEX INT	.617	1	.432	No
AUTM TT APEX EXT	1.729	1	.188	No
AUTM TT IT INT	7.999	4	.092	No
AUTM TT IT EXT	2.597	4	.627	No
AUTM TTIVIP INT	5.687	4	.224	No
AUTM TT IVIP EXT	3.660	4	.454	No
AUTM TT IVIL INT	15.468	4	.004	Si
AUTM TT IVIL EXT	5.980	4	.201	No
AUTM TT IVID INT	1.274	1	.259	No
AUTM TT IVID EXT	1.123	1	.289	No
AUTM TT SVIP INT	1.107	1	.293	No
AUTM TT SVIP EXT	.755	1	.385	No
AUTM TT SVD INT	6.901	4	.141	No
AUTM TT SVD EXT	10.809	4	.029	SI
AUTM TT SVID INT	.757	1	.384	No
AUTM TT SVID EXT	.525	1	.469	No
AUTM TT IVD INT	.313	1	.576	No
AUTM TT IVD EXT	.136	1	.712	No
AUTM TT SVIL INT	3.500	4	.478	No
AUTM TT SVIL EXT	3.646	4	.456	No

(Leyenda en Tabla 38)

- (Si) Si existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.
- (No) No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.

Tabla 39. Comparación entre causas diagnósticas para los valores de cTnl y cTnT para el GRUPO 1 (Test de la U de Mann-Whitney)

AUTOM TROP I MED EXT	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	1.000	.567	.642	1.000
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	.112
Asfixia por sumersión			-	1.000	.052
Traumatismo				-	.030
Otras causas de muerte natural					-

AUTM TT IVIL INT	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	.088	1.000	1.000	1.000
Infarto de miocardio		-	.345	.044	1.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	1.000
Traumatismo				-	.745
Otras causas de muerte natural					-

AUTM TTSVD EXT	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	.037	1.000	1.000	.018
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	1.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	1.000
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

RESULTADOS

Tabla 40. Valoración de la expresión de cTnl para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos . Prueba de Chi-cuadrado

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
MANUAL TI MEDIA INTENS	12.837	2	.002	SI
MANUAL TI MEDIA EXTENS	7.347	2	.025	SI
AUTOM TRP I MED INT	0.160	2	.923	NO
AUTOM TROP I MED EXT	4.532	2	.104	NO
AUTOM TROP I APEX INT	1.726	2	.422	NO
AUT TROP I APEX EXT	0.263	2	.877	NO
AUTM TROP I IT INTENS	2.905	2	.234	NO
AUTM TROP I IT EXT	6.520	2	.038	SI
AUTM TROP I IVIP INT	0.709	2	.702	NO
AUTM TROP I IVIP EXT	0.240	2	.887	NO
AUTM TI IVIL INT	0.536	2	.765	NO
AUTM IVIL TI EXTNS	1.836	2	.399	NO
AUTM TI IVID INT	5.172	2	.075	NO
AUTM TI IVID EXT	5.320	2	.070	NO
AUTM TI SVIP INT	0.119	2	.942	NO
AUTM TI SVIP EXT	0.492	2	.782	NO
AUTM TI SVD INT	0.177	2	.915	NO
AUTM TI SVD EXT	5.001	2	.082	NO
AUTM TI SVID INT	2.044	2	.360	NO
AUTM TI SVID EXT	0.338	2	.844	NO
AUTM TI IVD INT	2.493	2	.287	NO
AUTM TI IVD EXT	2.004	2	.367	NO
AUTM TI SVIL INT	0.257	2	.879	NO
AUTM TI SVIL EXT	1.457	2	.483	NO

Tabla 41. Valoración de la expresión de cTnT para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos . Prueba de Chi-cuadrado

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
MAN TROP T MEDIA INT	1.099	2	.577	NO
MANTROP T MEDIA EXTEN	0.460	2	.795	NO
AUTM TT MEDIA INT	0.952	2	.621	NO
AUTM TT MEDIA EXT	0.931	2	.628	NO
AUTM TT APEX INT	2.785	2	.248	NO
AUTM TT APEX EXT	4.603	2	.100	NO
AUTM TT IT INT	13.395	2	.001	SI
AUTM TT IT EXT	0.167	2	.920	NO
AUTM TTIVIP INT	2.259	2	.323	NO
AUTM TT IVIP EXT	2.598	2	.273	NO
AUTM TT IVIL INT	6.343	2	.042	SI
AUTM TT IVIL EXT	0.608	2	.738	NO
AUTM TT IVID INT	0.632	2	.729	NO
AUTM TT IVID EXT	0.959	2	.619	NO
AUTM TT SVIP INT	0.171	2	.918	NO
AUTM TT SVIP EXT	0.170	2	.918	NO
AUTM TT SVD INT	0.108	2	.948	NO
AUTM TTSVD EXT	0.174	2	.917	NO
AUTM TT SVID INT	1.495	2	.474	NO
AUTM TT SVID EXT	1.311	2	.519	NO
AUTM TT IVD INT	0.367	2	.832	NO
AUTM TT IVD EXT	0.541	2	.763	NO
AUTM TT SVIL INT	2.247	2	.325	NO
AUTM TT SVIL EXT	2.247	2	.325	NO

RESULTADOS

Tabla 42. Comparación entre causas diagnósticas para los valores de cTnl y cTnT para el GRUPO 2 (Test de la U de Mann-Whitney)

MANUAL TI MEDIA INTENS	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	1.000	.001
Suicida		-	.145
Accidental			-

MANUAL TI MEDIA EXTENS	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.045	.108
Suicida		-	.687
Accidental			-

AUTM TROP I IT EXT	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.041	.132
Suicida		-	1.000
Accidental			-

AUTM TT IT INT	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.019	.007
Suicida		-	.538
Accidental			-

AUTM TT IVIL INT	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.283	.052
Suicida		-	1.000
Accidental			-

RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS MORFOLÓGICOS ESTUDIADOS SOBRE TEJIDO CARDÍACO

Ninguna de las variables morfológicas estudiadas en las secciones miocárdicas (hipercromatismo y displasia nuclear, vacuolización bandas de contracción y necrosis de miocardiocitos, infiltrado inflamatorio, edema y hemorragias han mostrado diferencia estadísticamente significativa con respecto a la causa de la muerte ni ha mostrado relación con los parámetros inmunohistoquímicos o bioquímicos analizados.

RESULTADOS DE L ANALÍ SIS EST ADÍSTICO DEL MARCADORE S INMUNOHISTOQUÍMICOS

RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE PARP1

Los valores medios de expresión nuclear de PARP1 se encuentran especificados en la tabla 43.

Tabla 43. Estadísticos descriptivos de la expresión inmunohistoquímica de PARP1					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Causa	92	1	5	3.17	1.372
PARP_MEDIAInt	72	1.00	4.00	2.3829	.69234
PARP_MEDIA_Ext	72	1.00	5.00	2.8612	.91773
PARP_MediaCAL	72	1.00	16.00	7.2331	3.81431
N válido (según lista)	71				

PARP_MEDIAInt = PARP1 Media de Intensidad.; PARP_MEDIA_Ext = PARP1 Media de Extensión, ; PARP_MediaCAL = PARP1 Intesidad x Extensión

Los valores de expresión de PARP1 valorados semicuantitativamente según el diagnóstico de causa de muerte, para cada uno de los 3 valores medios calculados, la podemos ver en la graficas siguientes (Fig.31, 32 y 33).

Figura 31.

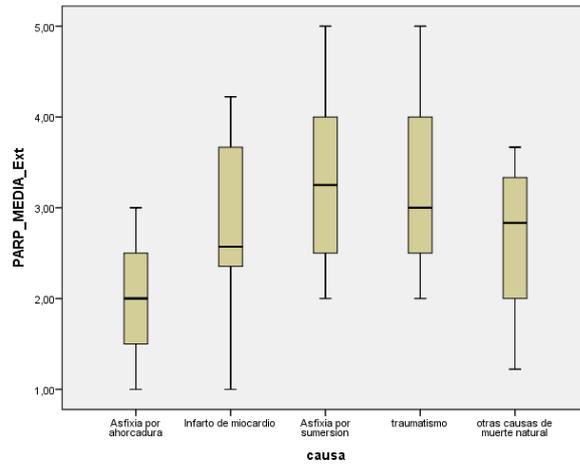


Figura 32.

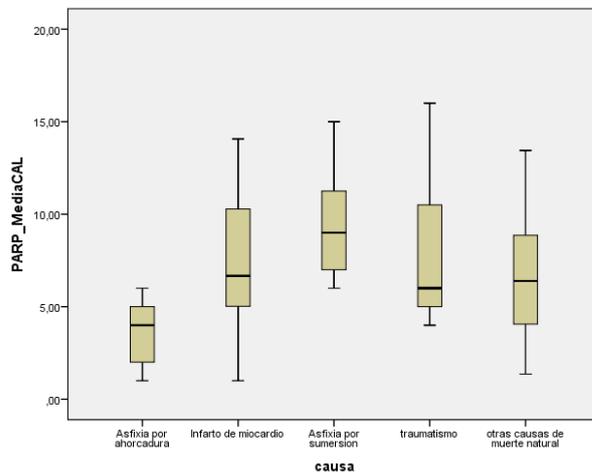
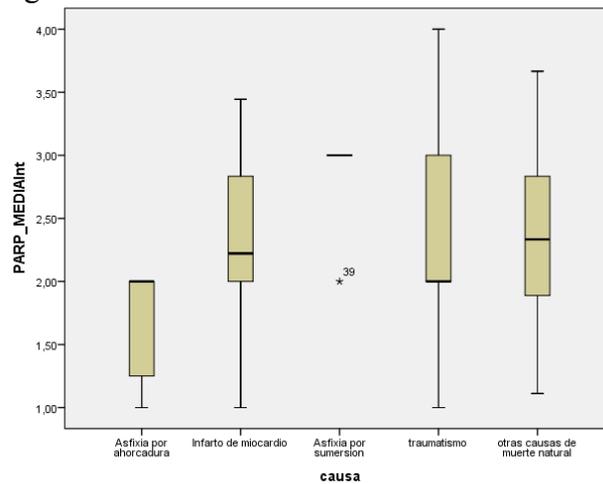


Figura 33.



Figuras 31-33. Expresión de PARP1 en tejido cardíaco en las diferentes causas de muerte (GRUPO1 de clasificación diagnóstica).

La intensidad y la extensión de la inmunotinción de PARP1 valorada semicuantitativamente en un escore de 0 a 3+ en las 9 áreas cardíacas estudiadas se detallan en las siguientes tablas (tablas 44 a 53:

Tabla 44a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en Ápex (Apex-Int)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	5	2.7	13.9	13.9
	positivo +	15	8.0	41.7	55.6
	positivo ++	8	4.3	22.2	77.8
	positivo +++	8	4.3	22.2	100.0
	Total	36	19.1	100.0	
Perdidos	Sistema	152	80.9		
Total		188	100.0		

Tabla 44b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en Ápex (Apex-Ext)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferiori 5 %	5	2.7	13.9	13.9
	positivo entre 6 y 25 %	8	4.3	22.2	36.1
	positivo 26% a 50 %	13	6.9	36.1	72.2
	positivo 51 % al 75 %	8	4.3	22.2	94.4
	positivo 76 % al 100 %	2	1.1	5.6	100.0
	Total	36	19.1	100.0	
Perdidos	Sistema	152	80.9		
Total		188	100.0		

Tabla 45a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en Tabique interventricular (IT)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	10	5.3	14.1	14.1
	positivo +	29	15.4	40.8	54.9
	positivo ++	25	13.3	35.2	90.1
	positivo +++	7	3.7	9.9	100.0
	Total	71	37.8	100.0	
Perdidos	Sistema	117	62.2		
Total		188	100.0		

RESULTADOS

Tabla 45b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en Tabique interventricular (PARP1_IT)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	11	5.9	15.5	15.5
	positivo entre 6 y 25 %	19	10.1	26.8	42.3
	positivo 26% a 50 %	19	10.1	26.8	69.0
	positivo 51 % al 75 %	18	9.6	25.4	94.4
	positivo 76 % al 100 %	4	2.1	5.6	100.0
	Total	71	37.8	100.0	
Perdidos	Sistema	117	62.2		
Total		188	100.0		

Tabla 46a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior (PARP1_IVIP int.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	7	3.7	18.9	18.9
	positivo +	12	6.4	32.4	51.4
	positivo ++	14	7.4	37.8	89.2
	positivo +++	4	2.1	10.8	100.0
	Total	37	19.7	100.0	
Perdidos	Sistema	151	80.3		
Total		188	100.0		

Tabla 46b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior (PARP1_IVIP ext.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	6	3.2	16.2	16.2
	positivo entre 6 y 25 %	9	4.8	24.3	40.5
	positivo 26% a 50 %	8	4.3	21.6	62.2
	positivo 51 % al 75 %	12	6.4	32.4	94.6
	positivo 76 % al 100 %	2	1.1	5.4	100.0
	Total	37	19.7	100.0	
Perdidos	Sistema	151	80.3		
Total		188	100.0		

Tabla 47a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral (PARP1.IVIL.Int.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	6	3.2	10.2	10.2
	positivo +	31	16.5	52.5	62.7
	positivo ++	17	9.0	28.8	91.5
	positivo +++	5	2.7	8.5	100.0
	Total	59	31.4	100.0	
Perdidos	Sistema	129	68.6		
Total		188	100.0		

Tabla 47b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral (PARP1.IVIL.exten.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	7	3.7	11.9	11.9
	positivo entre 6 y 25 %	14	7.4	23.7	35.6
	positivo 26% a 50 %	17	9.0	28.8	64.4
	positivo 51 % al 75 %	17	9.0	28.8	93.2
	positivo 76 % al 100 %	4	2.1	6.8	100.0
Total		59	31.4	100.0	
Perdidos	Sistema	129	68.6		
Total		188	100.0		

Tabla 48a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo izquierdo cara distal (PARP1.IVID.Intens.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	6	3.2	16.7	16.7
	positivo +	18	9.6	50.0	66.7
	positivo ++	9	4.8	25.0	91.7
	positivo +++	3	1.6	8.3	100.0
	Total	36	19.1	100.0	
Perdidos	Sistema	152	80.9		
Total		188	100.0		

RESULTADOS

Tabla 48b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo izquierdo cara distal (PARP1.IVID.exten.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	7	3.7	19.4	19.4
	positivo entre 6 y 25 %	10	5.3	27.8	47.2
	positivo 26% a 50 %	9	4.8	25.0	72.2
	positivo 51 % al 75 %	7	3.7	19.4	91.7
	positivo 76 % al 100 %	3	1.6	8.3	100.0
	Total	36	19.1	100.0	
Perdidos	Sistema	152	80.9		
Total		188	100.0		

Tabla 49a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área superior del ventrículo izquierdo cara posterior (PARP1.SVIP. Intens.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	8	4.3	21.6	21.6
	positivo +	14	7.4	37.8	59.5
	positivo ++	12	6.4	32.4	91.9
	positivo +++	3	1.6	8.1	100.0
	Total	37	19.7	100.0	
Perdidos	Sistema	151	80.3		
Total		188	100.0		

Tabla 49b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área superior del ventrículo izquierdo cara posterior (PARP1.SVIP. Extens.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	9	4.8	24.3	24.3
	positivo entre 6 y 25 %	12	6.4	32.4	56.8
	positivo 26% a 50 %	8	4.3	21.6	78.4
	positivo 51 % al 75 %	5	2.7	13.5	91.9
	positivo 76 % al 100 %	3	1.6	8.1	100.0
	Total	37	19.7	100.0	
Perdidos	Sistema	151	80.3		
Total		188	100.0		

Tabla 50a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área superior del ventrículo derecho (PARP1.SVD.INTES.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	4	2.1	11.4	11.4
	positivo +	10	5.3	28.6	40.0
	positivo ++	15	8.0	42.9	82.9
	positivo +++	6	3.2	17.1	100.0
	Total	35	18.6	100.0	
Perdidos	Sistema	153	81.4		
Total		188	100.0		

Tabla 50b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área superior del ventrículo derecho (PARP1.SVD.exten.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	4	2.1	10.8	10.8
	positivo entre 6 y 25 %	8	4.3	21.6	32.4
	positivo 26% a 50 %	12	6.4	32.4	64.9
	positivo 51 % al 75 %	12	6.4	32.4	97.3
	positivo 76 % al 100 %	1	.5	2.7	100.0
	Total	37	19.7	100.0	
Perdidos	Sistema	151	80.3		
Total		188	100.0		

Tabla 51a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área superior del ventrículo izquierdo cara distal (PARP.SVID.Inten.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	6	3.2	15.8	15.8
	positivo +	20	10.6	52.6	68.4
	positivo ++	11	5.9	28.9	97.4
	positivo +++	1	.5	2.6	100.0
	Total	38	20.2	100.0	
Perdidos	Sistema	150	79.8		
Total		188	100.0		

RESULTADOS

Tabla 51b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área superior del ventrículo izquierdo cara distal (PARP.SVID.extn.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	7	3.7	18.4	18.4
	positivo entre 6 y 25 %	10	5.3	26.3	44.7
	positivo 26% a 50 %	12	6.4	31.6	76.3
	positivo 51 % al 75 %	8	4.3	21.1	97.4
	positivo 76 % al 100 %	1	.5	2.6	100.0
	Total	38	20.2	100.0	
Perdidos	Sistema	150	79.8		
Total		188	100.0		

Tabla 52a. Distribución de la intensidad de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo derecho (PARP.IVD.Int.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	3	1.6	8.8	8.8
	positivo +	10	5.3	29.4	38.2
	positivo ++	16	8.5	47.1	85.3
	positivo +++	5	2.7	14.7	100.0
	Total	34	18.1	100.0	
Perdidos	Sistema	154	81.9		
Total		188	100.0		

Tabla 52b. Distribución de la extensión de expresión de PARP1 en área inferior del ventrículo derecho (PARP.IVD.exten.)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo inferior 5 %	4	2.1	11.8	11.8
	positivo entre 6 y 25 %	3	1.6	8.8	20.6
	positivo 26% a 50 %	12	6.4	35.3	55.9
	positivo 51 % al 75 %	12	6.4	35.3	91.2
	positivo 76 % al 100 %	3	1.6	8.8	100.0
	Total	34	18.1	100.0	
Perdidos	Sistema	154	81.9		
Total		188	100.0		

Tabla 53. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1

Variables	N		Media	Error típ. de la media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
	Válidos	Perdidos							
Edad	170	18	55.12	1.472	57.00	19.193	93	2	95
PARP Apex.cal	36	152	7.94	.84885	6.0000	5.09310	19.00	1.00	20.00
PARP IT calc	71	117	7.44	.56800	6.0000	4.78609	19.00	1.00	20.00
PARP_IVIPcal	37	151	7.78	.83570	6.0000	5.08339	15.00	1.00	16.00
PARP.IVIL.calc	59	129	7.63	.62291	6.0000	4.78467	19.00	1.00	20.00
PARP.IVID.calc	36	152	6.86	.86479	6.0000	5.18874	19.00	1.00	20.00
PARP.SVIP.Calc	37	151	6.59	.86859	4.0000	5.28341	19.00	1.00	20.00
PARP.SVD.calc	37	151	8.65	.81485	9.0000	4.95657	19.00	1.00	20.00
PARP.SVID.calc	38	150	6.37	.65589	6.0000	4.04315	15.00	1.00	16.00
PARP.IVD.calc	34	154	9.29	.85022	9.0000	4.95757	19.00	1.00	20.00
PARP_MEDIAInt	72	116	2.38	.08159	2.2222	.69234	3.00	1.00	4.00
PARP_MEDIA_Ext	72	116	2.86	.10816	3.0000	.91773	4.00	1.00	5.00
PARP_MediaCAL	72	116	7.23	.44952	6.2407	3.81431	15.00	1.00	16.00

Leyenda tabla 53.

PARP Apex.cal = PARP1 Apex. calculado intensidad x extensión:

PARP IT calc = PARP1 calculado tabique interventricular intensidad x extensión.:

PARP_IVIPcal = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.IVIL.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral intensidad x extensión.

PARP.IVID.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.SVIP.Calc = PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.SVD.calc = PARP1 calculado área superior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP.SVID.calc = PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.IVD.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP_MEDIAInt = PARP1 media Intensidad calculado.

PARP_MEDIA_Ext = PARP1 calculado media extensión.

PARP_MediaCAL = PARP1 calculado media de intensidad x media extensión.

RESULTADOS

Tabla 54a. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1 según causa de muerteGRUPO 1 diagnóstico

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Parp Apex.cal	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	8.111	5.738	1.353	1.00	20.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	7.778	4.519	1.065	1.00	16.00
	Total	36	7.944	5.093	0.849	1.00	20.00
PARP IT calc	Asfixia por ahorcadura	7	3.286	2.289	0.865	1.00	6.00
	Infarto de miocardio	22	7.818	5.386	1.148	1.00	20.00
	Asfixia por sumersión	8	9.250	3.012	1.065	6.00	15.00
	Traumatismo	13	8.846	5.031	1.395	4.00	16.00
	Otras causas de muerte natural	20	6.600	4.500	1.006	1.00	16.00
	Total	70	7.371	4.789	0.572	1.00	20.00
PARP_IVIPcal	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	8.053	4.882	1.120	1.00	16.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	7.500	5.415	1.276	1.00	16.00
	Total	37	7.784	5.083	0.836	1.00	16.00
PARP.IVIL.calc	Asfixia por ahorcadura	3	5.333	1.155	0.667	4.00	6.00
	Infarto de miocardio	21	7.810	4.885	1.066	1.00	20.00
	Asfixia por sumersión	4	12.000	2.449	1.225	9.00	15.00
	Traumatismo	11	8.636	4.760	1.435	1.00	16.00
	Otras causas de muerte natural	19	5.632	3.876	0.889	1.00	16.00
	Total	58	7.414	4.535	0.595	1.00	20.00
PARP.IVID.calc	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	7.789	6.303	1.446	1.00	20.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	5.824	3.468	0.841	1.00	12.00
	Total	36	6.861	5.189	0.865	1.00	20.00
PARP.SVIP.Calc	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	6.526	6.077	1.394	1.00	20.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	6.667	4.472	1.054	1.00	16.00
	Total	37	6.595	5.283	0.869	1.00	20.00

Tabla 54b. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1 según causa de muerteGRUPO 1 diagnóstico							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
PARP.SVD.calc	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	8.263	4.433	1.017	1.00	16.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	18	9.056	5.557	1.310	1.00	20.00
	Total	37	8.649	4.957	0.815	1.00	20.00
PARP.SVID.calc	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	19	6.421	3.820	0.876	1.00	12.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	19	6.316	4.360	1.000	1.00	16.00
	Total	38	6.368	4.043	0.656	1.00	16.00
PARP.IVD.calc	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	17	9.471	5.234	1.269	1.00	16.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	9.118	4.820	1.169	1.00	20.00
	Total	34	9.294	4.958	0.850	1.00	20.00
PARP_MEDIAInt	Asfixia por ahorcadura	7	1.643	0.476	0.180	1.00	2.00
	Infarto de miocardio	23	2.382	0.638	0.133	1.00	3.44
	Asfixia por sumersión	8	2.875	0.354	0.125	2.00	3.00
	Traumatismo	13	2.423	0.787	0.218	1.00	4.00
	Otras causas de muerte natural	20	2.364	0.664	0.148	1.11	3.67
	Total	71	2.367	0.684	0.081	1.00	4.00
PARP_MEDIA_Ext	Asfixia por ahorcadura	7	2.000	0.816	0.309	1.00	3.00
	Infarto de miocardio	23	2.890	0.868	0.181	1.00	4.22
	Asfixia por sumersión	8	3.313	1.033	0.365	2.00	5.00
	Traumatismo	13	3.154	0.922	0.256	2.00	5.00
	Otras causas de muerte natural	20	2.676	0.735	0.164	1.22	3.67
	Total	71	2.838	0.903	0.107	1.00	5.00
PARP_MediaCAL	Asfixia por ahorcadura	7	3.571	2.070	0.782	1.00	6.00
	Infarto de miocardio	23	7.304	3.647	0.760	1.00	14.07
	Asfixia por sumersión	8	9.438	3.041	1.075	6.00	15.00
	Traumatismo	13	7.923	4.410	1.223	4.00	16.00
	Otras causas de muerte natural	20	6.678	3.234	0.723	1.36	13.44
	Total	71	7.113	3.702	0.439	1.00	16.00

Leyenda tabla 54

Apex.cal = PARP1 Apex. calculado intensidad x extensión:

PARP IT calc = PARP1 calculado tabique interventricular intensidad x extensión.:

PARP_IVIPcal = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.IVIL.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral intensidad x extensión.

PARP.IVID.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.SVIP.Calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.SVD.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP.SVID.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.IVD.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP_MEDIAInt= PARP1 media Intensidad calculado.

PARP_MEDIA_Ext= PARP1 calculado media extensión.

PARP_MediaCAL= PARP1 calculado media de intensidad x media extensión.

Tabla 55a. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1 según causa de muerteGRUPO 2 diagnóstico							
Variable	Etiología	N	Media	Desv. típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Parp Apex.cal	Natural	27	8.37	5.300	1.020	1.00	20.00
	Suicida	3	8.67	6.429	3.712	4.00	16.00
	Accidental	6	5.67	3.386	1.382	1.00	10.00
	Total	36	7.94	5.093	0.849	1.00	20.00
PARP IT calc	Natural	32	7.31	5.214	0.922	1.00	20.00
	Suicida	11	5.64	4.319	1.302	1.00	16.00
	Accidental	26	8.15	4.487	0.880	1.00	16.00
	Total	69	7.36	4.823	0.581	1.00	20.00
PARP_IVIPcal	Natural	28	8.07	4.860	0.919	1.00	16.00
	Suicida	3	7.33	5.686	3.283	1.00	12.00
	Accidental	6	6.67	6.593	2.692	1.00	16.00
	Total	37	7.78	5.083	0.836	1.00	16.00
PARP.IVIL.calc	Natural	32	7.06	4.859	0.859	1.00	20.00
	Suicida	7	6.43	3.047	1.152	4.00	12.00
	Accidental	19	8.37	4.450	1.021	1.00	16.00
	Total	58	7.41	4.535	0.595	1.00	20.00
PARP.IVID.calc	Natural	28	7.57	5.640	1.066	1.00	20.00
	Suicida	2	2.50	2.121	1.500	1.00	4.00
	Accidental	6	5.00	1.095	0.447	4.00	6.00
	Total	36	6.86	5.189	0.865	1.00	20.00
PARP.SVIP.Calc	Natural	28	6.86	5.727	1.082	1.00	20.00
	Suicida	3	6.33	5.508	3.180	1.00	12.00
	Accidental	6	5.50	3.146	1.285	1.00	9.00
	Total	37	6.59	5.283	0.869	1.00	20.00
PARP.SVD.calc	Natural	28	8.64	4.684	0.885	1.00	16.00
	Suicida	3	10.33	5.132	2.963	6.00	16.00
	Accidental	6	7.83	6.735	2.750	1.00	20.00
	Total	37	8.65	4.957	0.815	1.00	20.00
PARP.SVID.calc	Natural	29	6.10	4.178	0.776	1.00	16.00
	Suicida	3	6.00	5.292	3.055	2.00	12.00
	Accidental	6	7.83	2.994	1.222	4.00	12.00
	Total	38	6.37	4.043	0.656	1.00	16.00
PARP.IVD.calc	Natural	27	9.59	4.994	0.961	1.00	20.00
	Suicida	3	10.67	6.110	3.528	4.00	16.00
	Accidental	4	6.25	3.775	1.887	1.00	9.00
	Total	34	9.29	4.958	0.850	1.00	20.00

RESULTADOS

Tabla 55b. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1 según causa de muerteGRUPO 2 diagnóstico							
Variable	Etiología1	N	Media	Desv. típica	Error típico	Mínimo	Máximo
PARP_MEDIAInt	Natural	33	2.40	0.638	0.111	1.00	3.67
	Suicida	11	2.16	0.814	0.246	1.00	3.50
	Accidental	26	2.43	0.703	0.138	1.00	4.00
	Total	70	2.37	0.688	0.082	1.00	4.00
PARP_MEDIA_Ext	Natural	33	2.82	0.813	0.142	1.00	4.22
	Suicida	11	2.42	0.947	0.285	1.00	4.00
	Accidental	26	2.99	0.961	0.188	1.63	5.00
	Total	70	2.82	0.899	0.107	1.00	5.00
PARP_MediaCAL	Natural	33	7.19	3.543	0.617	1.00	14.07
	Suicida	11	5.81	3.917	1.181	1.00	14.00
	Accidental	26	7.53	3.898	0.764	2.44	16.00
	Total	70	7.10	3.727	0.446	1.00	16.00

Leyenda tabla 55.

Apex.cal =PARP1 Apex.calculado intensidad x extensión:

PARP IT calc = PARP1 calculado tabique interventricular intensidad x extensión.:

PARP_IVIPcal = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.IVIL.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral intensidad x extensión.

PARP.IVID.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.SVIP.Calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.SVD.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP.SVID.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.IVD.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP_MEDIAInt= PARP1 media Intensidad calculado.

PARP_MEDIA_Ext= PARP1 calculado media extensión.

PARP_MediaCAL= PARP1 calculado media de intensidad x media extensión.

Tabla 56a. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1 según causa de muerteGRUPO 3 diagnóstico							
Variable	Etiología2	N	Media	Desv. típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Parp Apex.cal	Infarto	14	11.0714	5.60857	1.49895	1.00	20.00
	Traumatismo	3	5.6667	4.50925	2.60342	1.00	10.00
	Asfixia	6	6.3333	2.94392	1.20185	4.00	12.00
	Otras causas muerte	12	5.5833	4.03301	1.16423	1.00	12.00
	Total	35	7.9143	5.16419	.87291	1.00	20.00
PARP IT calc	Infarto	20	9.5000	5.03148	1.12507	2.00	20.00
	Traumatismo	11	7.6364	5.55469	1.67480	1.00	16.00
	Asfixia	15	6.2667	4.46361	1.15250	1.00	15.00
	Otras causas muerte	15	6.1333	4.83834	1.24925	1.00	16.00
	Total	61	7.5410	5.04504	.64595	1.00	20.00
PARP_IVIPcal	Infarto	15	9.4667	4.89704	1.26441	2.00	16.00
	Traumatismo	3	4.6667	6.35085	3.66667	1.00	12.00
	Asfixia	6	7.6667	4.41210	1.80123	1.00	12.00
	Otras causas muerte	12	6.6667	5.44949	1.57313	1.00	16.00
	Total	36	7.8333	5.14643	.85774	1.00	16.00
PARP.IVIL.calc	Infarto	18	8.6111	4.92459	1.16074	1.00	20.00
	Traumatismo	9	8.0000	4.87340	1.62447	1.00	16.00
	Asfixia	13	7.0769	3.98877	1.10628	1.00	15.00
	Otras causas muerte	14	5.7857	4.67692	1.24996	1.00	16.00
	Total	54	7.4074	4.64806	.63252	1.00	20.00
PARP.IVID.calc	Infarto	14	9.8571	6.43138	1.71886	1.00	20.00
	Traumatismo	2	5.0000	1.41421	1.00000	4.00	6.00
	Asfixia	6	4.8333	2.71416	1.10805	1.00	8.00
	Otras causas muerte	13	4.9231	3.63917	1.00933	1.00	12.00
	Total	35	6.8857	5.26236	.88950	1.00	20.00
PARP.SVIP.Calc	Infarto	15	8.4667	6.09293	1.57319	1.00	20.00
	Traumatismo	2	2.5000	2.12132	1.50000	1.00	4.00
	Asfixia	6	6.0000	4.77493	1.94936	1.00	15.00
	Otras causas muerte	13	5.7692	4.45634	1.23597	1.00	16.00
	Total	36	6.7500	5.27189	.87865	1.00	20.00
PARP.SVD.calc	Infarto	15	10.4000	4.32270	1.11612	4.00	16.00
	Traumatismo	3	4.6667	1.15470	.66667	4.00	6.00
	Asfixia	6	7.6667	2.87518	1.17379	4.00	12.00
	Otras causas muerte	12	7.9167	6.55686	1.89280	1.00	20.00
	Total	36	8.6389	5.02652	.83775	1.00	20.00

RESULTADOS

Tabla 56b. Estadísticos descriptivos del cálculo de la expresión x intensidad inmunohistoquímica PARP1 según causa de muerteGRUPO 3 diagnóstico							
Variable	Etiología2	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
PARP.SVID.calc	Infarto	15	7.0000	3.70328	.95618	1.00	12.00
	Traumatismo	3	7.3333	2.30940	1.33333	6.00	10.00
	Asfixia	6	6.6667	5.85377	2.38979	1.00	12.00
	Otras causas muerte	13	5.0769	4.00960	1.11206	1.00	16.00
	Total	37	6.2973	4.07475	.66989	1.00	16.00
PARP.IVD.calc	Infarto	14	10.9286	4.99945	1.33616	1.00	16.00
	Traumatismo	1	6.0000			6.00	6.00
	Asfixia	5	9.8000	4.49444	2.00998	4.00	16.00
	Otras causas muerte	13	7.6154	5.15652	1.43016	1.00	20.00
	Total	33	9.3030	5.03416	.87634	1.00	20.00
PARP_MEDIAInt	Infarto	20	2.6764	.53933	.12060	1.67	3.44
	Traumatismo	11	2.2955	.88613	.26718	1.00	4.00
	Asfixia	15	2.1796	.51615	.13327	1.00	3.00
	Otras causas muerte	16	2.2387	.77975	.19494	1.00	3.67
	Total	62	2.3757	.68932	.08754	1.00	4.00
PARP_MEDIA_Ext	Infarto	20	3.1786	.65770	.14707	2.00	4.22
	Traumatismo	11	3.0633	.79248	.23894	1.63	4.00
	Asfixia	15	2.6926	1.01767	.26276	1.00	5.00
	Otras causas muerte	16	2.4696	1.01304	.25326	1.00	5.00
	Total	62	2.8576	.90295	.11467	1.00	5.00
PARP_MediaCAL	Infarto	20	8.7392	3.13481	.70096	3.33	14.07
	Traumatismo	11	7.3482	4.34159	1.30904	2.44	16.00
	Asfixia	15	6.2901	3.65297	.94319	1.00	15.00
	Otras causas muerte	16	6.1303	4.18961	1.04740	1.00	15.00
	Total	62	7.2266	3.84883	.48880	1.00	16.00

PARP Apex.cal =PARP1 Apex.calculado intensidad x extensión:

PARP IT calc = PARP1 calculado tabique interventricular intensidad x extensión.:

PARP_IVIPcal = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.IVIL.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral intensidad x extensión.

PARP.IVID.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.SVIP.Calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.SVD.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP.SVID.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.IVD.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP_MEDIAInt= PARP1 media Intensidad calculado.

PARP_MEDIA_Ext= PARP1 calculado media extensión.

PARP_MediaCAL= PARP1 calculado media de intensidad x media extensión.

RESULTADOS DE L ANALÍ SIS EST ADÍSTICO DE LA EXP RESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE PARP1 EN TEJIDO CARDÍACO

La expresión nuclear de PARP1 fue detectada inmunohistoquímicamente en el 96.5% de los casos de las áreas estudiadas. Evaluado semicuantitativamente su expresión (ver materiales y métodos) mediante su Intensidad y Extensión La Intensidad fue de menos a más en el siguiente orden: Asfixia mecánica por ahorcadura, traumatismos, IM, otras causas de muerte natural (estos tres últimos con valores muy similares) y asfixia por sumersión. La expresión de la extensión de PARP1 fue de menos a más en el siguiente orden: Asfixia mecánica por ahorcadura, IM, otras casusas de muerte natural, traumatismo y asfixia por sumersión El análisis estadístico realizado mediante χ^2 en cada una de las 10 zonas cardiacas analizadas no fue concluyente por ser el número de casillas con frecuencias bajas superior al 20% máximo permitido. Si se pudo calcular los parámetros de multiplicación del valor de la intensidad x la extensión en cada una de las 10 áreas cardiacas además del la media de la intensidad y media de extensión de dichas 10 áreas analizadas así como el producto de multiplicación de ambos (intensidad y extensión). Todo ello frente a GRUPO 1 de causas de muerte, GRUPO 2 y GRUPO 3 (Ver Estadística Descriptiva) mediante análisis no paramétrico de χ^2 con siguientes resultados;

La expresión inmunohistoquímica de PARP1 estratificados según GRUPO 1 de causas de muerte” diferenció las “asfixias mecánicas por ahorcaduras” frente a las producidas por “asfixias por sumersión” en cortes histológicos en el sentido siguiente:

- Diferencia en los valores resultantes al multiplicar la intensidad por el área inmunoteñida en el Tabique interventricular (IT) (P=0.02, test K-W).
- Diferencias en el valor medio obtenido de la Intensidad de PARP1 en las 10 zonas de corazón estudiadas (P=0.011, test K-W).
- Diferencia en la media de los valores resultantes al multiplicar la intensidad por la extensión de los valores inmunohistoquímicos de PARP1 de las muestras tomadas en las 10 zonas de las distintas Áreas cardiacas (P=0.021, test K-W).

Se puede apreciar en las figuras 24, 25 y 26 que las muertes por “asfixia mecánica por ahorcadura” presentan valores muchos más bajos de PARP1 frente a los valores más altos producidos por las “asfixias por sumersión” sin que haya solapamiento entre ambos valores.

Cuando el análisis para la expresión inmunohistoquímica de PARP1 se realizó en el GRUPO 2 de causas de muerte, no se obtuvo ninguna significación estadística capaz de diferenciar la forma en que se produjo la muerte (accidental, natural o suicida).

La media de extensión inmunohistoquímica de PARP1 valorado según el GRUPO 3 de causas de muerte fue capaz de diferenciar las poblaciones al comparar IM frente a “otras causas de muertes naturales” ($P=0.037$, test K-W). Siendo la extensión de la expresión de PARP1 mayor en el “IM” y baja en las “otras causas de muertes naturales”. En el mismo sentido, aunque con significación estadística marginal los valores de multiplicar intensidad por la extensión de la expresión inmunohistoquímica de PARP1 en el Ápex cardíaco ($P=0.053$, test K-W).

No se pudo calcular el test chi-cuadrado para la determinación localizada de forma individualizada en cada uno de los 10 puntos diferentes cardíacos ya que en la valoración semicuantitativa utilizada el número de casillas con frecuencias bajas superó el máximo permitido del 20%. Por lo que habría que agrupar categorías para poder calcularlo.

TABLAS CON LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LA EXPRESIÓN IMMUNOHISTOQUÍMICA DE PARP1

Tabla 57. Valoración de la expresión de PARP1 para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos. Prueba de Chi-cuadrado				
Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
Parp Apex.cal	.002	1	.962	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP IT calc	9.699	4	.046	Existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP_IVIPcal	.227	1	.634	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP.IVIL.calc	9.157	4	.057	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP.IVID.calc	.373	1	.541	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP.SVIP.Calc	.328	1	.567	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP.SVD.calc	.105	1	.746	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP.SVID.calc	.043	1	.835	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP.IVD.calc	.221	1	.638	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP_MEDIAInt	13.119	4	.011	Existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP_MEDIA_Ext	8.920	4	.063	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas
PARP_MediaCAL	11.288	4	.024	Existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas

RESULTADOS

Tabla 58. Comparación entre causas diagnósticas para los valores de PARP1 para el GRUPO 1 (Test de la U de Mann-Whitney)

PARP IT calc	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	.255	.020	.181	.634
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	1.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	.794
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

PARP_MEDIAInt	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	.111	.011	.176	.159
Infarto de miocardio		-	.251	1.000	1.000
Asfixia por sumersión			-	.813	.274
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

PARP_MediaCAL	Asfixia por ahorcadura	Infarto de miocardio	Asfixia por sumersión	Traumatismo	Otras causas de muerte natural
Asfixia por ahorcadura	-	.119	.021	.158	.318
Infarto de miocardio		-	1.000	1.000	1.000
Asfixia por sumersión			-	1.000	.478
Traumatismo				-	1.000
Otras causas de muerte natural					-

Tabla 59. Valoración de la expresión de PARP1 para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos .Prueba de Chi-cuadrado

Variable	Chi-cuadrado	gl	valor de P	Resultado
PARP Apex.cal	1.406	2	.495	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP IT calc	2.300	2	.317	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_IVIPcal	.603	2	.740	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.IVIL.calc	2.050	2	.359	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.IVID.calc	3.276	2	.194	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.SVIP.Calc	.037	2	.982	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.SVD.calc	.873	2	.646	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.SVID.calc	1.515	2	.469	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.IVD.calc	1.851	2	.396	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_MEDIAInt	.898	2	.638	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_MEDIA_Ext	2.070	2	.355	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_MediaCAL	1.957	2	.376	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías

PARP Apex.cal = PARP1 Apex. calculado intensidad x extensión:

PARP IT calc = PARP1 calculado tabique interventricular intensidad x extensión.:

PARP_IVIPcal = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.IVIL.calc = PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara lateral intensidad x extensión.

PARP.IVID.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.SVIP.Calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara posterior intensidad x extensión.

PARP.SVD.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP.SVID.calc= PARP1 calculado área superior del ventrículo izquierdo cara distal intensidad x extensión.

PARP.IVD.calc= PARP1 calculado área inferior del ventrículo derecho intensidad x extensión.

PARP_MEDIAInt= PARP1 media Intensidad calculado.

PARP_MEDIA_Ext= PARP1 calculado media extensión.

PARP_MediaCAL= PARP1 calculado media de intensidad x media extensión.

RESULTADOS

Tabla 60. Valoración de la expresión de PARP1 para las causas de muerte según GRUPO 3 de diagnósticos .Prueba de Chi-cuadrado				
Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
Parp Apex.cal	8.225	3	.042	Existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP IT calc	5.287	3	.152	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_IVIPcal	3.660	3	.301	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.IVIL.calc	3.726	3	.293	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.IVID.calc	5.487	3	.139	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.SVIP.Calc	3.419	3	.331	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.SVD.calc	4.772	3	.189	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.SVID.calc	2.674	3	.445	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP.IVD.calc	4.303	3	.231	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_MEDIAInt	6.188	3	.103	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_MEDIA_Ext	8.609	3	.035	Existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías
PARP_MediaCAL	7.125	3	.068	NO existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes etiologías

Leyenda en Tabla 59

Tabla 61. Comparación entre causas diagnósticas para los valores de PARP1 para el GRUPO 3 (Test de la U de Mann-Whitney)

Parp1 Apex.cal	Infarto	Traumatismo	Asfixia	Otras causas muerte
Infarto	-	.616	.343	.053
Traumatismo		-	1.000	1.000
Asfixia			-	1.000
Otras causas muerte				-

PARP_MEDIA_Ext	Infarto	Traumatismo	Asfixia	Otras causas muerte
Infarto	-	1.000	.302	.037
Traumatismo		-	1.000	.316
Asfixia			-	1.000
Otras causas muerte				-

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE NOGO-A EN T EJIDO CARDÍACO

RESULTADOS

En las tablas 62 a 65 se especifican los valores medios de expresión de Nogo-A y los valores de dispersión.

Tabla 62. Estadísticos descriptivos de los valores semicuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-A según GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MAN NOGO MEDIA INT	Asfixia por ahorcadura	23	0.446	0.567	0.118	0.00	2.25
	Infarto de miocardio	50	0.487	0.451	0.064	0.00	1.75
	Asfixia por sumersión	10	0.325	0.442	0.140	0.00	1.00
	Traumatismo	25	0.390	0.464	0.093	0.00	1.67
	Otras causas de muerte natural	42	0.495	0.515	0.080	0.00	1.75
Intensidad nogo por extensi media	Asfixia por ahorcadura	23	7,4717	1,27491	,26584	5,34	9,00
	Infarto de miocardio	50	7,2626	1,84501	,26092	0,00	9,00
	Asfixia por sumersion	11	8,5227	,96472	,29087	6,00	9,00
	Traumatismo	25	7,7920	1,71095	,34219	3,34	9,00
	Otras causas de muerte natural	42	7,4513	1,71626	,26482	,56	9,00
	Total	151	7,5264	1,67204	,13607	0,00	9,00

MAN NOGO MEDIA INT = Manual Nogo-A Media intensidad

Intensidad nogo por extensi media = Nogo Intensidad x Extensión

Tabla 63a. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-A según GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM NOGO MEDIA INT	Asfixia por ahorcadura	22	0.000	0.001	0.000	0.00	.00
	Infarto de miocardio	50	0.001	0.002	0.000	0.00	.01
	Asfixia por sumersión	9	0.001	0.003	0.001	0.00	.01
	Traumatismo	26	0.001	0.004	0.001	0.00	.02
	Otras causas de muerte natural	42	0.001	0.003	0.000	0.00	.01
	Total	149	0.001	0.003	0.000	0.00	.02
AUTM NOGO MEDIA EXT	Asfixia por ahorcadura	21	0.933	1.913	0.417	0.00	6.75
	Infarto de miocardio	50	2.002	3.524	0.498	0.00	13.73
	Asfixia por sumersión	9	0.950	2.850	0.950	0.00	8.55
	Traumatismo	26	1.226	3.027	0.594	0.00	14.70
	Otras causas de muerte natural	40	1.753	3.415	0.540	0.00	14.26
	Total	146	1.577	3.169	0.262	0.00	14.70

AUTM NOGO MEDIA INT= Automático Nogo-A Media Intensida
 AUTM NOGO MEDIA EXT= Automático Nogo-A Media Extensión

Tabla 63b. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.APEX.INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	16	0.003	0.008	0.002	0.00	.03
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	32	0.001	0.006	0.001	0.00	.03
AUT.NOG.APEX.EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	16	3.653	10.447	2.612	0.00	37.72
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	32	1.826	7.500	1.326	0.00	37.72
AUT.NOG.IT.I	Asfixia por ahorcadura	22	0.000	0.002	0.000	0.00	.01
	Infarto de miocardio	48	0.000	0.002	0.000	0.00	.01
	Asfixia por sumersión	9	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	24	0.000	0.000	0.000	0.00	.00
	Otras causas de muerte natural	37	0.000	0.002	0.000	0.00	.01
	Total	140	0.000	0.001	0.000	0.00	.01
AUT.NOG.IT.E	Asfixia por ahorcadura	21	1.119	3.097	0.676	0.00	13.50
	Infarto de miocardio	48	1.180	4.223	0.609	0.00	20.66
	Asfixia por sumersión	9	0.778	2.333	0.778	0.00	7.00
	Traumatismo	24	0.577	1.747	0.357	0.00	7.00
	Otras causas de muerte natural	35	0.805	2.162	0.365	0.00	9.00
	Total	137	0.943	3.103	0.265	0.00	20.66
AUT.NOG.IVIP.INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.001	0.002	0.001	0.00	.01
	Infarto de miocardio	45	0.001	0.004	0.001	0.00	.03
	Asfixia por sumersión	2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	13	0.006	0.018	0.005	0.00	.07
	Otras causas de muerte natural	36	0.002	0.007	0.001	0.00	.03
	Total	112	0.002	0.008	0.001	0.00	.07

RESULTADOS

Tabla 63c. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.IVIP.EXT	Asfixia por ahorcadura	15	1.933	5.837	1.507	0.00	22.00
	Infarto de miocardio	45	1.933	6.312	0.941	0.00	34.00
	Asfixia por sumersión	2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	13	5.231	11.910	3.303	0.00	41.00
	Otras causas de muerte natural	34	2.941	8.316	1.426	0.00	30.00
	Total	109	2.606	7.667	0.734	0.00	41.00
AUT.NOG.IVIL.INT	Asfixia por ahorcadura	18	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Infarto de miocardio	48	0.000	0.002	0.000	0.00	.01
	Asfixia por sumersión	5	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	20	0.000	0.000	0.000	0.00	.00
	Otras causas de muerte natural	39	0.001	0.005	0.001	0.00	.03
	Total	130	0.000	0.003	0.000	0.00	.03
AUT.NOG.IVIL.EXT	Asfixia por ahorcadura	17	0.176	0.529	0.128	0.00	2.00
	Infarto de miocardio	47	1.121	3.495	0.510	0.00	16.00
	Asfixia por sumersión	5	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	19	0.443	1.658	0.380	0.00	7.19
	Otras causas de muerte natural	37	1.378	6.365	1.046	0.00	38.00
	Total	125	0.921	4.118	0.368	0.00	38.00
AUT.NOG.IVID.INT	Asfixia por ahorcadura	1	0.000			0.00	0.00
	Infarto de miocardio	19	0.001	0.003	0.001	0.00	.01
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	13	0.000	0.001	0.000	0.00	.00
	Total	33	0.001	0.002	0.000	0.00	.01
IAUT.NOG.VID.EXT	Asfixia por ahorcadura	1	0.000			0.00	0.00
	Infarto de miocardio	19	1.287	5.609	1.287	0.00	24.45
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	13	0.337	1.215	0.337	0.00	4.38
	Total	33	0.874	4.300	0.749	0.00	24.45

Tabla 63d. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.SVIP.INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	15	0.001	0.006	0.001	0.00	.02
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.000	0.001	0.000	0.00	.01
	Total	31	0.001	0.004	0.001	0.00	.02
AUT.NOG.SVIP.EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	15	3.186	9.290	2.399	0.00	34.35
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.262	1.048	0.262	0.00	4.19
	Total	31	1.677	6.560	1.178	0.00	34.35
AUT.ANOG.SVD.INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Infarto de miocardio	45	0.002	0.007	0.001	0.00	.04
	Asfixia por sumersión	2	0.012	0.017	0.012	0.00	.02
	Traumatismo	13	0.001	0.002	0.001	0.00	.01
	Otras causas de muerte natural	40	0.000	0.002	0.000	0.00	.01
	Total	116	0.001	0.005	0.000	0.00	.04
AUT.NOG.SVD.EXT	Asfixia por ahorcadura	15	0.533	1.407	0.363	0.00	4.00
	Infarto de miocardio	44	3.699	8.370	1.262	0.00	37.00
	Asfixia por sumersión	2	14.000	19.799	14.000	0.00	28.00
	Traumatismo	13	1.615	3.948	1.095	0.00	11.00
	Otras causas de muerte natural	38	1.941	5.615	0.911	0.00	24.49
	Total	112	2.621	6.839	0.646	0.00	37.00
AUT.NOG.SVID.INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	35	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00

RESULTADOS

Tabla 63e. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 1 de diagnósticos							
Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.SVIP.INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	15	0.001	0.006	0.001	0.00	.02
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.000	0.001	0.000	0.00	.01
	Total	31	0.001	0.004	0.001	0.00	.02
AUT.NOG.SVIP.EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	15	3.186	9.290	2.399	0.00	34.35
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.262	1.048	0.262	0.00	4.19
	Total	31	1.677	6.560	1.178	0.00	34.35
AUT.ANOG.SVD.INT	Asfixia por ahorcadura	16	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Infarto de miocardio	45	0.002	0.007	0.001	0.00	.04
	Asfixia por sumersión	2	0.012	0.017	0.012	0.00	.02
	Traumatismo	13	0.001	0.002	0.001	0.00	.01
	Otras causas de muerte natural	40	0.000	0.002	0.000	0.00	.01
	Total	116	0.001	0.005	0.000	0.00	.04
AUT.NOG.SVD.EXT	Asfixia por ahorcadura	15	0.533	1.407	0.363	0.00	4.00
	Infarto de miocardio	44	3.699	8.370	1.262	0.00	37.00
	Asfixia por sumersión	2	14.000	19.799	14.000	0.00	28.00
	Traumatismo	13	1.615	3.948	1.095	0.00	11.00
	Otras causas de muerte natural	38	1.941	5.615	0.911	0.00	24.49
	Total	112	2.621	6.839	0.646	0.00	37.00
AUT.NOG.SVID.INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	35	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00

Tabla 63f. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 1 de diagnósticos

Variable	Causa	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.SVID.EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	18	0.182	0.771	0.182	0.00	3.27
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	17	0.202	0.711	0.172	0.00	2.92
	Total	35	0.192	0.731	0.124	0.00	3.27
AUT.NOG.IVD.INT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	16	0.002	0.005	0.001	0.00	.02
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	0.000	0.001	0.000	0.00	.01
	Total	32	0.001	0.004	0.001	0.00	.02
AUT.NOG.IVD.EXT	Asfixia por ahorcadura	0					
	Infarto de miocardio	16	3.381	7.903	1.976	0.00	30.03
	Asfixia por sumersión	0					
	Traumatismo	0					
	Otras causas de muerte natural	16	2.434	5.981	1.495	0.00	17.95
	Total	32	2.907	6.911	1.222	0.00	30.03
AUT.NOG.SIVIL.INT	Asfixia por ahorcadura	1	0.000			0.00	0.00
	Infarto de miocardio	1	0.000			0.00	0.00
	Asfixia por sumersión	2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	3	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Otras causas de muerte natural	1	0.000			0.00	0.00
	Total	8	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
AUT.NOG.SIVIL.EXT	Asfixia por ahorcadura	1	0.000			0.00	0.00
	Infarto de miocardio	1	0.000			0.00	0.00
	Asfixia por sumersión	2	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Traumatismo	3	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Otras causas de muerte natural	1	0.000			0.00	0.00
	Total	8	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00

RESULTADOS

Tabla 64. Estadísticos descriptivos de los valores semicuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Etiología1	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
MAN NOGO MEDIA INT	Natural	33	.3712	0.396	0.069	0.00	1.44
	Suicida	10	.1000	0.211	0.067	0.00	.50
	Accidental	25	.1992	0.354	0.071	0.00	1.11
	Total	68	.2681	0.370	0.045	0.00	1.44

MAN NOGO MEDIA INT = Valor medio de la Intensidad de Nogo-A lecutara manualsemicuantitativa

Tabla 65a. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Etiología1	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUTM NOGO MEDIA INT	Natural	33	.0007	0.001	0.000	0.00	.01
	Suicida	9	.0006	0.001	0.000	0.00	.00
	Accidental	25	.0002	0.001	0.000	0.00	.00
	Total	67	.0005	0.001	0.000	0.00	.01
SUTM GO MEDIA EXT	Natural	33	1.3272	2.705	0.471	0.00	11.42
	Suicida	9	.8177	2.233	0.744	0.00	6.75
	Accidental	25	.4890	1.312	0.262	0.00	5.21
	Total	67	.9460	2.221	0.271	0.00	11.42

AUTM NOGO MEDIA INT = Cuantitativo Me día de Nogo-A Intensidad
 SUTM NOGO MEDIA EXT= Cuantitativo Media de Nogo-A Extensión

Tabla 65b. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 2 de diagnósticos

Variable	Etiología1	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.APEX.INT	Natural	24	.0017	0.006	0.001	0.00	.03
	Suicida	2	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	32	.0013	0.006	0.001	0.00	.03
AUT.NOG.APEX.EXT	Natural	24	2.4350	8.618	1.759	0.00	37.72
	Suicida	2	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	32	1.8263	7.500	1.326	0.00	37.72
AUT.NOG.IT.I	Natural	29	.0003	0.001	0.000	0.00	.01
	Suicida	8	.0010	0.003	0.001	0.00	.01
	Accidental	22	.0000	0.000	0.000	0.00	.00
	Total	59	.0003	0.001	0.000	0.00	.01
AUT.NOG.IT.E	Natural	29	.8570	3.887	0.722	0.00	20.66
	Suicida	8	1.6869	4.771	1.687	0.00	13.50
	Accidental	22	.3114	1.134	0.242	0.00	5.11
	Total	59	.7661	3.272	0.426	0.00	20.66
AUT.NOG.IVIP.INT	Natural	24	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	31	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
AUT.NOG.IVIP.EXT	Natural	24	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	31	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
AUT.NOG.IVIL.INT	Natural	29	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Suicida	5	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	15	.0001	0.000	0.000	0.00	.00
	Total	49	.0000	0.000	0.000	0.00	.00
AUT.NOG.IVIL.EXT	Natural	29	.5057	2.723	0.506	0.00	14.67
	Suicida	5	.2448	0.547	0.245	0.00	1.22
	Accidental	15	.4793	1.856	0.479	0.00	7.19
	Total	49	.4710	2.316	0.331	0.00	14.67
AUT.NOG.IVID.INT	Natural	27	.0006	0.003	0.000	0.00	.01
	Suicida	2	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	4	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	33	.0005	0.002	0.000	0.00	.01
IAUT.NOG.VID.EXT	Natural	27	1.0677	4.748	0.914	0.00	24.45
	Suicida	2	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	4	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	33	.8736	4.300	0.749	0.00	24.45

RESULTADOS

Tabla 65c. Estadísticos descriptivos de los valores cuantitativos de expresión inmunohistoquímica de Nogo-Asegún GRUPO 2 de diagnósticos							
Variable	Etiología ¹	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
AUT.NOG.SVIP.INT	Natural	25	.0011	0.004	0.001	0.00	.02
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	5	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	31	.0009	0.004	0.001	0.00	.02
AUT.NOG.SVIP.EXT	Natural	25	2.0795	7.274	1.455	0.00	34.35
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	5	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	31	1.6770	6.560	1.178	0.00	34.35
AUT.ANOG.SVD.INT	Natural	28	.0009	0.005	0.001	0.00	.03
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	6	.0010	0.002	0.001	0.00	.01
	Total	35	.0009	0.004	0.001	0.00	.03
AUT.NOG.SVD.EXT	Natural	28	2.2149	6.660	1.259	0.00	33.01
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	6	4.0813	9.997	4.081	0.00	24.49
	Total	35	2.4716	7.114	1.202	0.00	33.01
AUT.NOG.SVID.INT	Natural	28	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	35	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
AUT.NOG.SVID.EXT	Natural	28	.2396	0.813	0.154	0.00	3.27
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	35	.1917	0.731	0.124	0.00	3.27
AUT.NOG.IVD.INT	Natural	24	.0016	0.004	0.001	0.00	.02
	Suicida	2	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	6	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	32	.0012	0.004	0.001	0.00	.02
AUT.NOG.IVD.EXT	Natural	24	3.1618	7.274	1.485	0.00	30.03
	Suicida	2	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Accidental	6	2.8590	7.003	2.859	0.00	17.15
	Total	32	2.9074	6.911	1.222	0.00	30.03
AUT.NOG.SIVIL.INT	Natural	1	0.0000			0.00	0.00
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	5	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	7	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
AUT.NOG.SIVIL.EXT	Natural	1	0.0000			0.00	0.00
	Suicida	1	0.0000			0.00	0.00
	Accidental	5	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00
	Total	7	0.0000	0.000	0.000	0.00	0.00

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LA EXPRESIÓN IMMUNOHISTOQUÍMICA DE NOGO-A

La Intensidad de expresión inmunohistoquímica de Nogo-A es muy baja, muy cerca del punto de corte.

El análisis estadístico de los valores de las secciones inmunoteñidas para Nogo A realizado mediante χ^2 en cada una de las 10 zonas cardíacas analizadas de forma semicuantitativa no fue concluyente por ser el número de casillas con frecuencias bajas superior al 20%, máximo permitido. Si se pudo calcular los parámetros de multiplicación del valor de la intensidad por la extensión de expresión inmunohistoquímica en cada una de las 10 áreas cardíacas, además de la media de la intensidad y media de extensión de dichas 10 áreas analizadas, así como el producto de multiplicar ambos (valores de intensidad por extensión).

La expresión de Nogo A no mostró diferencias estadísticamente significativas con referencia a la causa de muerte. No obstante al transformar los datos y multiplicar la media de intensidad por la extensión pudo discriminar las “asfixias por sumersión” frente a “IM” y “asfixia mecánica por ahorcadura” (P=0.038, test de K-W) aunque la potencia del test no fue lo suficiente para poder realizar una corrección en comparación por parejas con la prueba U de Mann Whitney para muestras independientes, se puede apreciar gráficamente en la Figura 38.

La expresión de Nogo A si mostró diferencias estadísticamente significativas al estratificar las causas de muerte según GRUPO 2 (accidental, muerte natural, suicidio) en la comparación por parejas se aprecian las siguientes diferencias:

- Muerte “natural “vs. “suicidio”
 - o Para la media de Intensidad de expresión de Nogo-A en las 10 zonas cardíacas (P= 0.011, test de K-W), corregido con la prueba de U de Mann-Whitney (P=0.038).
- ” Muerte natural “ vs. “accidental”
 - o Para la media de Intensidad de expresión de Nogo-A en las 10 zonas cardíacas (P= 0.011, test de K-W), corregido con la prueba de U de Mann-Whitney (P=0.035). Además de Intensidad x Extensión de U de Mann-Whitney (P=0.004)

RESULTADOS

No fue significativa la expresión de Nogo A entre las causas diagnosticas según GRUPO 3.

TABLAS CON LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO ANALÍTICO DE LA EXPRESIÓN IMMUNOHISTOQUÍMICA DE NOGO-A

Tabla 66. Valoración de la expresión de Nogo A para las causas de muerte según GRUPO 1 de diagnósticos .Prueba de Chi-cuadrado				
Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
AUTM NOGO MEDIA INT	3.810	4	.432	No
AUTOM NOGO MEDIA EXT	3.794	4	.435	No
AUT.NOGO.APEX.INT	2.065	1	.151	No
AUT.NOGO.APEX.EXT	3.198	1	.074	No
AUT.NOGO.IT.I	.700	4	.951	No
AUT.NOGO.IT.E	.434	4	.980	No
AUT.NOGO.IVIP.INT	1.741	4	.783	No
AUT.NOGO.IVIP.EXT	1.669	4	.796	No
AUT.NOGO.IVIL.INT	2.106	4	.716	No
AUT.NOGO.IVIL.EXT	1.081	4	.897	No
AUT.NOGO.IVID.INT	.119	2	.942	No
IAUT.NOGO.VID.EXT	.119	2	.942	No
AUT.NOGO.SVIP.INT	.009	1	.926	No
AUT.NOGO.SVIP.EXT	.536	1	.464	No
AUT.ANOG.SVD.INT	8.005	4	.091	No
AUT.NOGO.SVD.EXT	5.525	4	.238	No
AUT.NOGO.SVID.INT	0.000	1	1.000	No
AUT.NOGO.SVID.EXT	.334	1	.563	No
AUT.NOGO.IVD.INT	2.048	1	.152	No
AUT.NOGO.IVD.EXT	.516	1	.472	No
AUT.NOGO.SIVIL.INT	0.000	4	1.000	No
AUT.NOGO.SIVIL.EXT	0.000	4	1.000	No

(Si) Si existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.

(No) No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la variable numérica en las diferentes causas.

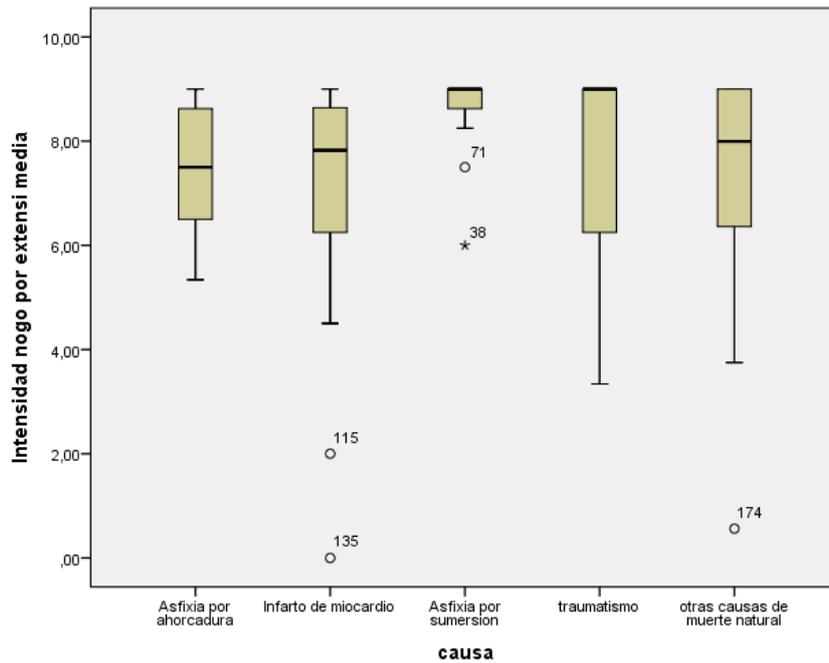
Tabla 67. Valoración de la expresión de Nogo A para las causas de muerte según GRUPO 2 de diagnósticos .Prueba de Chi-cuadrado

Variable	Chi-cuadrado	gl	Valor de P	Resultado
MAN NOGO MEDIA INT	8.981	2	.011	SI
AUTM NOGO MEDIA INT	3.006	2	.222	NO
AUTM NOGO MEDIA EXT	5.058	2	.080	NO
AUT.NOG.APEX.INT	0.688	2	.709	NO
AUT.NOG.APEX.EXT	1.066	2	.587	NO
AUT.NOG.IT.I	0.710	2	.701	NO
AUT.NOG.IT.E	0.281	2	.869	NO
AUT.NOG.IVIP.INT	0.000	2	1.000	NO
AUT.NOG.IVIP.EXT	0.000	2	1.000	NO
AUT.NOG.IVIL.INT	2.267	2	.322	NO
AUT.NOG.IVIL.EXT	1.776	2	.411	NO
AUT.NOG.IVID.INT	0.458	2	.795	NO
IAUT.NOG.VID.EXT	0.458	2	.795	NO
AUT.NOG.SVIP.INT	0.496	2	.780	NO
AUT.NOG.SVIP.EXT	0.769	2	.681	NO
AUT.ANOG.SVD.INT	1.455	2	.483	NO
AUT.NOG.SVD.EXT	0.264	2	.876	NO
AUT.NOG.SVID.INT	0.000	2	1.000	NO
AUT.NOG.SVID.EXT	0.795	2	.672	NO
AUT.NOG.IVD.INT	1.896	2	.388	NO
AUT.NOG.IVD.EXT	0.939	2	.625	NO
AUT.NOG.SIVIL.INT	0.000	2	1.000	NO
AUT.NOG.SIVIL.EXT	0.000	2	1.000	NO

Tabla 68. Comparación entre causas diagnósticas para los valores de Nogo-A para el GRUPO 2 (Test de la U de Mann-Whitney)

MAN Nogo A MEDIA INT	Natural	Suicida	Accidental
Natural	-	.038	.035
Suicida		-	.983
Accidental			-

Figura 34. Expresión de Nogo-A en tejido cardíaco en las diferentes causas de muerte (GRUPO1 de clasificación diagnóstica).



CURVAS ROC

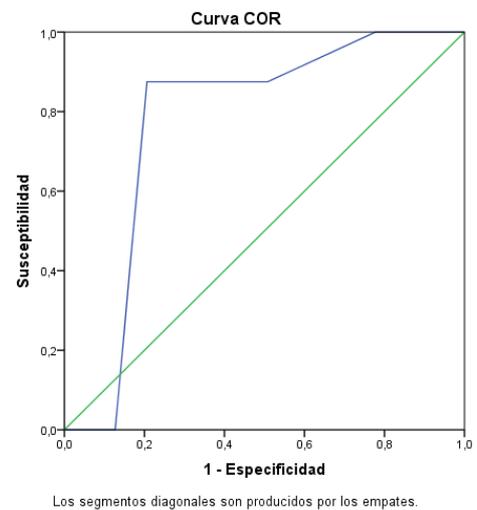
Se realizaron Curvas Roc para aquellos parámetros más significativos y que a su vez fueron objetivo de nuestro trabajo. Se hicieron para la Intensidad de PARP1 y Lipoperoxidación.

La Intensidad de PARP1 logro separar las asfixias por sumersión frente al resto de parámetros y sobre todo las producidas mecánicamente por ahorcadura En las tablas siguientes se pueden valorar el mejor punto de corte por sensibilidad y especificidad (valor reflejado como 1- especificidad)

PARP1- Valor medio de intensidad en las 10 zonas de tejido cardíacas.

1º.- Asfixias por Sumersión frente al resto de procesos.

Tabla 69. Coordenadas de la curva Grupo 1		
Variables resultado de contraste:	PARP_MEDIAInt	
Positivo si es mayor o igual que ^a	Sensibilidad	1 - Especificidad
0.0000	1.000	1.000
1.0556	1.000	.937
1.3056	1.000	.921
1.5833	1.000	.889
1.7083	1.000	.857
1.7639	1.000	.810
1.8889	1.000	.778
2.0556	.875	.508
2.1181	.875	.492
2.1736	.875	.476
2.3333	.875	.429
2.4722	.875	.397
2.5278	.875	.349
2.6111	.875	.317
2.7222	.875	.286
2.8333	.875	.238
2.9444	.875	.206
3.1250	0.000	.127
3.2917	0.000	.111
3.3889	0.000	.079
3.4722	0.000	.048
3.5833	0.000	.032
3.8333	0.000	.016
5.0000	0.000	0.000



El punto de corte que optimiza la Sensibilidad y Especificidad es el valor 2.94 de la variable PARP_MEDIAInt. Con dicho punto de corte se calcula la capacidad diagnóstica de la variable PARP_MEDIAInt para la causa de muerte

RESULTADOS

Tabla 70. Área bajo la curva para Causa				
Variables resultado de contraste:	PARP_MEDIAInt			
Área	Error típ. ^a	Sig. asintótica ^b	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
.774	.071	.012	.634	.914
a. Bajo el supuesto no paramétrico				
b. Hipótesis nula: área verdadera = 0.5				

Tabla 71. Tabla de contingencia PARP_MEDIAInt_Causa				
Recuento				
		Causas_cat1_roc		Total
		Asfixia por sumersion	Otras causas	
PARP_MEDIAInt_cat	<=2.94	1	50	51
	>2.94	7	13	20
Total		8	63	71

El test de la Chi-cuadrado con corrección de continuidad de Yates indica que existe asociación estadísticamente significativa entre las variables, valor de $P=0.000$

Tabla 72.	IC 95%		
	Valor	Lim. Inf	Lim. Sup
Sensibilidad	87.5	58.33	100
Especificidad	79.37	68.58	90.,15
VPP	35	11.6	58.4
VPN	98.04	93.25	100

Aunque los mejores resultados se pueden obtener al enfrentar “Causa de muerte por asfixias por Ahorcadura” frente a “Sumersión”. Ver tablas de contingencia en resultados analíticos.

Para Lipoperoxidación. Se muestran las 2 curvas ROC más significativas.

-Media de Lipoperoxidación en tejidos (tablas 73-76).

Tabla 73. Coordenadas de la curva Grupo 1		
Variables resultado de contraste:	Peroxidac.media	
Positivo si es mayor o igual que ^a	Sensibilidad	1 - Especificidad
82.15	1.000	1.000
87.65	1.000	.947
107.25	.982	.947
126.18	.964	.947
130.16	.964	.895
136.30	.964	.842
142.84	.945	.842
144.01	.945	.789
145.87	.945	.737
147.18	.945	.684
148.06	.927	.684
151.39	.909	.684
163.20	.909	.632
172.60	.909	.579
173.75	.891	.579
174.83	.891	.526
175.78	.891	.474
178.06	.873	.474
179.65	.873	.421
180.55	.855	.421
181.56	.855	.368
182.85	.855	.316
184.46	.836	.316
185.20	.818	.316
187.22	.818	.263
196.06	.800	.263
203.36	.782	.263
207.15	.782	.211
214,75	,764	,211
221,49	,764	,158
229,03	,745	,158
235,82	,727	,158
240,36	,709	,158
248,37	,691	,158
253,76	,673	,158

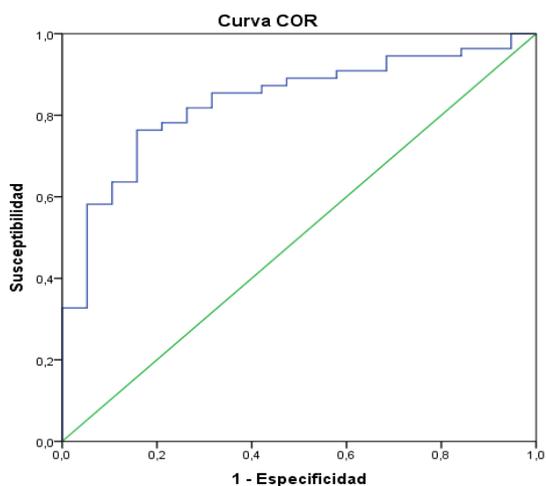
255.17	.655	.158
258.49	.636	.158
262.43	.636	.105
264.84	.618	.105
267.56	.600	.105
269.98	.582	.105
275.51	.582	.053
285.19	.564	.053
289.55	.545	.053
291.24	.527	.053
293.01	.509	.053
295.27	.491	.053
298.83	.473	.053
300.87	.455	.053
302.58	.436	.053
305.13	.418	.053
310.72	.400	.053
319.21	.382	.053
325.57	.364	.053
329.70	.345	.053
339.30	.327	.053
350.70	.327	0.000
364.10	.309	0.000
375.65	.291	0.000
379.80	.273	0.000
383.71	.255	0.000
385.94	.236	0.000
389.43	.218	0.000
410.55	.200	0.000
429.91	.182	0.000
445.81	.164	0.000
471.88	.145	0.000
483.45	.127	0.000
505.50	.109	0.000
529.41	.091	0.000
561.80	.073	0.000
654.24	.055	0.000
745.36	.036	0.000
785.86	.018	0.000
798.23	0.000	0.000

RESULTADOS

El punto de corte que optimiza la Sensibilidad y Especificidad es el valor 187.22 de la variable Peroxidac. Media. Con dicho punto de corte se calcula la capacidad diagnóstica de la variable Peroxidac. Media para la causa de muerte

**Tabla 74. Tabla de contingencia Peroxidac.media_c
Causas_Grupo1_roc**

Recuento		Causas_grupo 1_roc		Total
		Asfixias+Infarto+Trauma	Otras causas de muerte natural	
Peroxidac.media_cat	<=187.22	10	14	24
	>187.22	45	5	50
Total		55	19	74



**Tabla 75. Tabla de contingencia Peroxidac.media_cat *
Causas_cat3_roc**

Recuento		Causas_cat3_roc		Total
		Asfixias+Infarto+Trauma	Otras causas de muerte natural	
Peroxidac.media_cat	<=187.22	10	14	24
	>187.22	45	5	50
Total		55	19	74

El test de la Chi-cuadrado con corrección de continuidad de Yates indica que existe asociación estadísticamente significativa entre las variables. Valor de P=0.000

Tabla 76.	IC 95%		
	Valor	Lim. Inf	Lim. Sup
Sensibilidad	81.82	70.72	92.92
Especificidad	73.68	51.25	96.12
VPP	90	80.68	99.32
VPN	58.33	36.53	80.14

El valor PP y VPN sensibilidad y especificidad va a variar en función del número de casos de pacientes fallecidos por muertes por asfixias por ahorcadura que son los que contamina el valor del resultado. Para hacernos una mejor idea podríamos revisar las tablas de contingencia de peroxidación media en resultados analíticos.

Para la Lipoperoxidación del suero se obtuvo un mejor área bajo la curva para la Curva ROC (0.92)

Tabla 77. Área bajo la curva para Causa de muerte				
Variables resultado de contraste:		lipoperox.suero		
Área	Error típ. ^a	Sig. asintótica ^b	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
.920	.032	.000	.857	.982

a. Bajo el supuesto no paramétrico

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0.5

Siendo el punto de corte que optimiza la Sensibilidad y Especificad es el valor 19.25 de la variable lipoperoxsuero. Con dicho punto de corte se calcula la capacidad diagnóstica de la variable lipoperoxsuero para la causa de muerte

RESULTADOS

Tabla 78. Coordenadas de la curva

VARIABLES
RESULTADO DE
CONTRASTE: lipoperox.suero

Positivo si es mayor o igual que ^a	Sensibilidad	1 - Especificidad
4.87	1.000	1.000
6.11	1.000	.938
7.07	1.000	.875
8.24	.982	.875
9.27	.982	.813
9.89	.982	.750
10.17	.982	.688
10.83	.982	.625
11.38	.982	.563
11.55	.982	.500
12.37	.964	.500
13.42	.964	.438
13.71	.946	.438
14.19	.929	.438
15.46	.929	.375
16.35	.911	.375
16.54	.893	.375
16.78	.893	.313
17.03	.875	.313
17.44	.875	.250
17.75	.857	.250
17.84	.839	.250
19.26	.839	.188
20.83	.821	.188
21.38	.821	.125
21.76	.804	.125
21.94	.804	.063
22.12	.786	.063
22.36	.750	.063
22.99	.732	.063
24.06	.714	.063
24.77	.696	.063
24.92	.696	0.000
25.22	.679	0.000
25.55	.661	0.000

26.23	.643	0.000
26.93	.625	0.000
27.20	.607	0.000
28.09	.589	0.000
28.89	.571	0.000
29.55	.554	0.000
30.22	.536	0.000
30.46	.518	0.000
31.00	.500	0.000
32.15	.482	0.000
33.66	.464	0.000
34.67	.446	0.000
35.24	.429	0.000
35.77	.411	0.000
36.36	.393	0.000
37.59	.375	0.000
38.95	.339	0.000
39.97	.321	0.000
40.86	.304	0.000
41.86	.286	0.000
45.55	.268	0.000
48.89	.250	0.000
49.13	.232	0.000
50.19	.214	0.000
51.55	.196	0.000
52.70	.179	0.000
56.35	.161	0.000
60.01	.143	0.000
61.55	.125	0.000
65.35	.107	0.000
69.06	.089	0.000
72.77	.071	0.000
76.95	.054	0.000
79.01	.036	0.000
89.56	.018	0.000
100.12	0.000	0.000

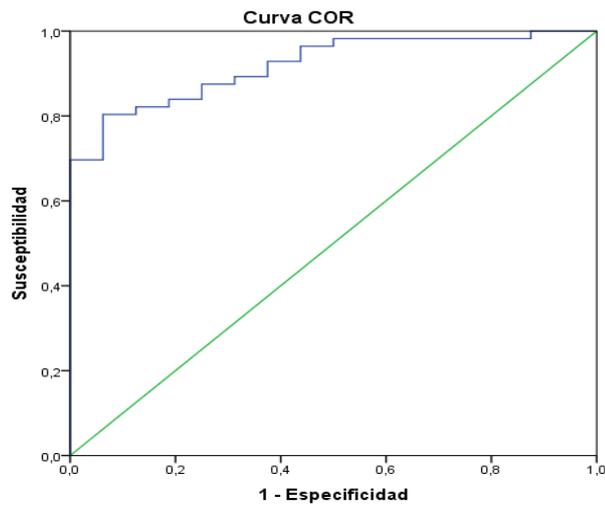


Tabla 79. de contingencia lipoperox.suero_Causa

Recuento		Causas_cat3_roc		Total
		Asfixias+Infarto+Trauma	Otras causas de muerte natural	
lipoperox.suero_cat	<=19.25	9	13	22
	>19.25	47	3	50
Total		56	16	72

El valor PP y VPN sensibilidad y especificidad va a variar en función del número de casos de pacientes fallecidos por muertes por traumatismo que son los que contaminan el valor del resultado. Para hacernos una mejor idea podríamos revisar las tablas de contingencia de lipoperoxidación en suero en resultados analíticos.

ICONOGRAFÍA

Figura 35. Imágenes de músculo cardíaco teñidos con hematoxilina-eosina.

- A) Núcleos irregular y aumentado de tamaño en miocardio isquémico.
- B) Presencia de infiltrado inflamatorio agudo en foco de infarto de miocardio incipiente.
- C) Infarto evolucionado con miocardiocitos destruidos y pigmento hemosiderínico.
- D) Infarto antiguo con zona fibrótica cicatricial.

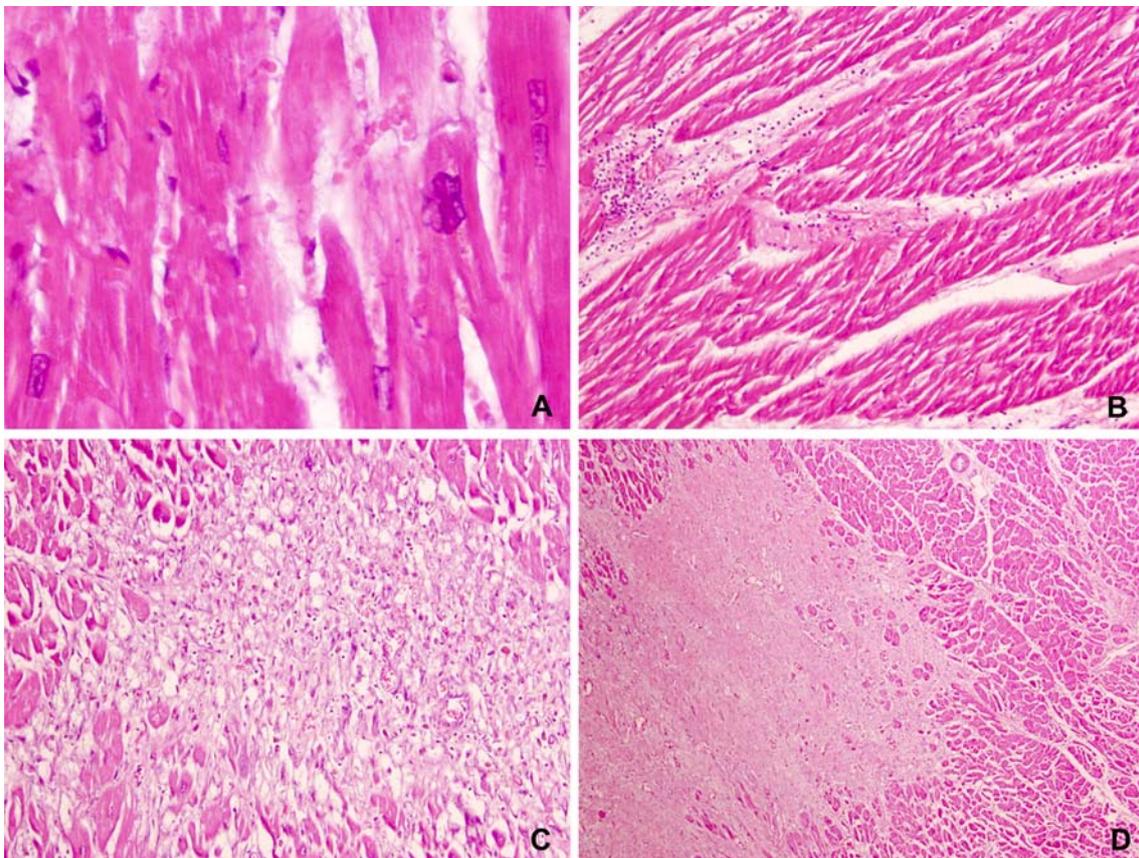


Figura 36. Matriz de tejido (tissue array) inmunoteñido frente a troponina T (Polímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB).

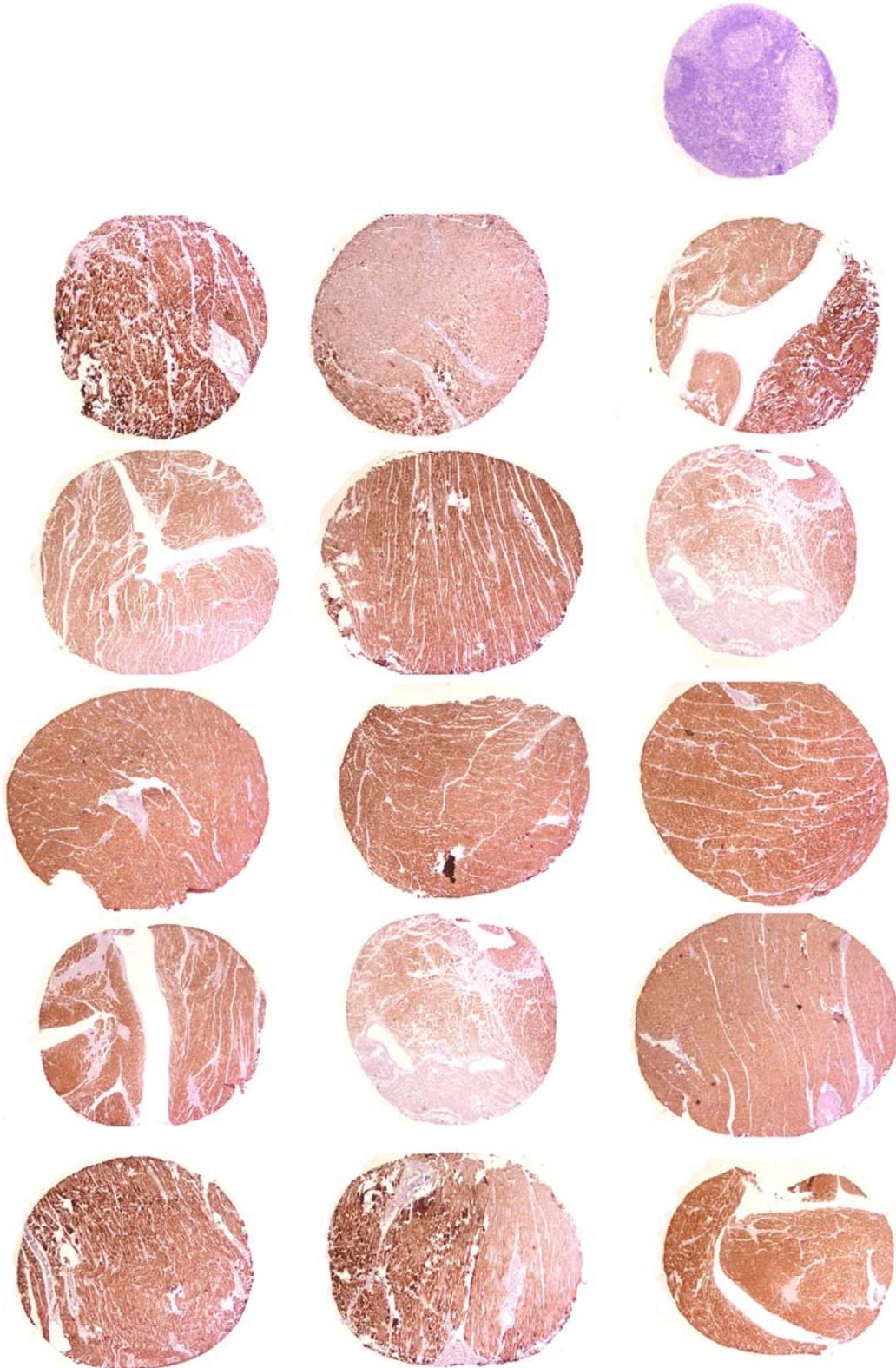
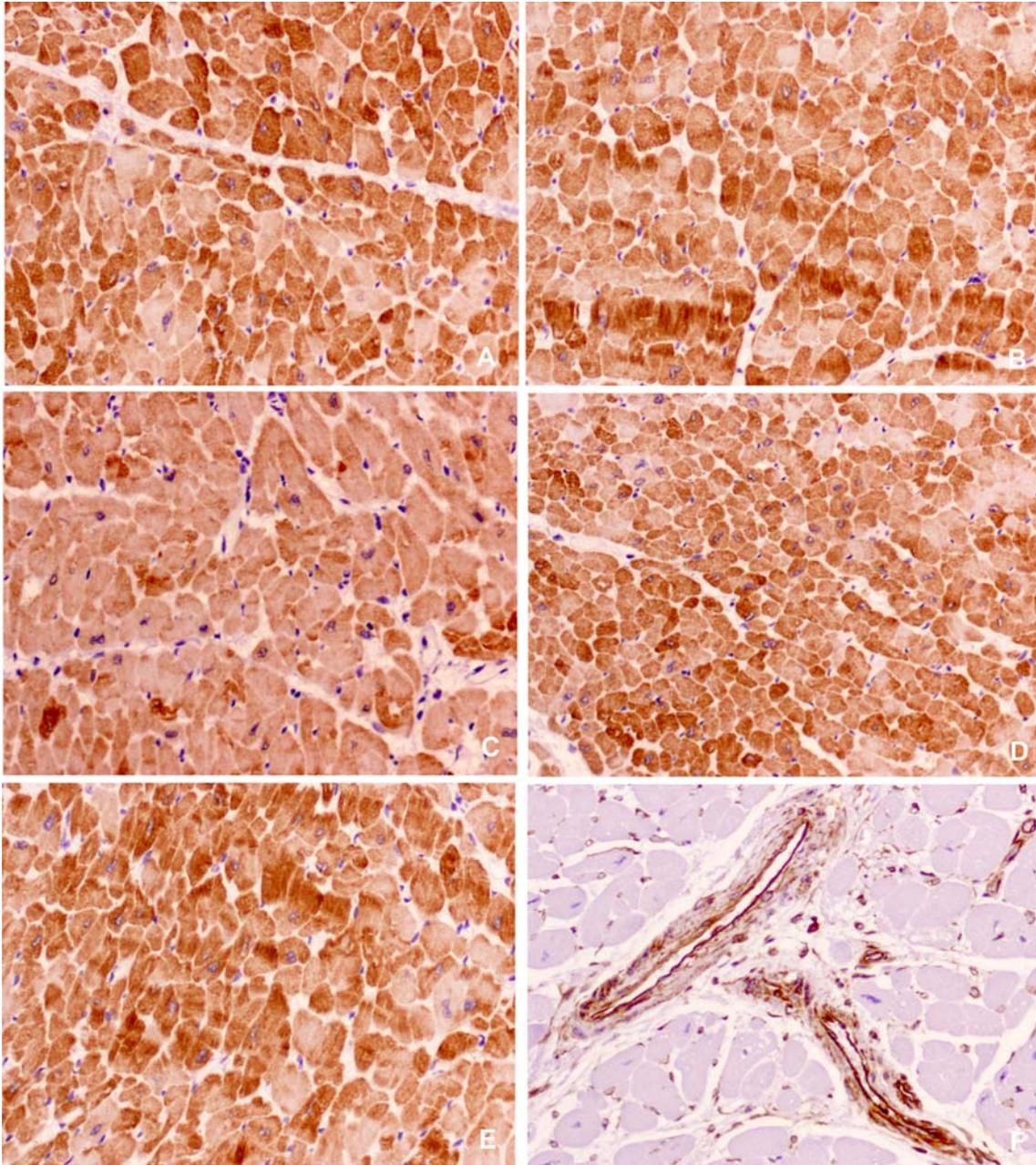


Figura 37. Imágenes representativas de la expresión inmunohistoquímica de troponina T en las diferentes causas de muerte (Polímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB).

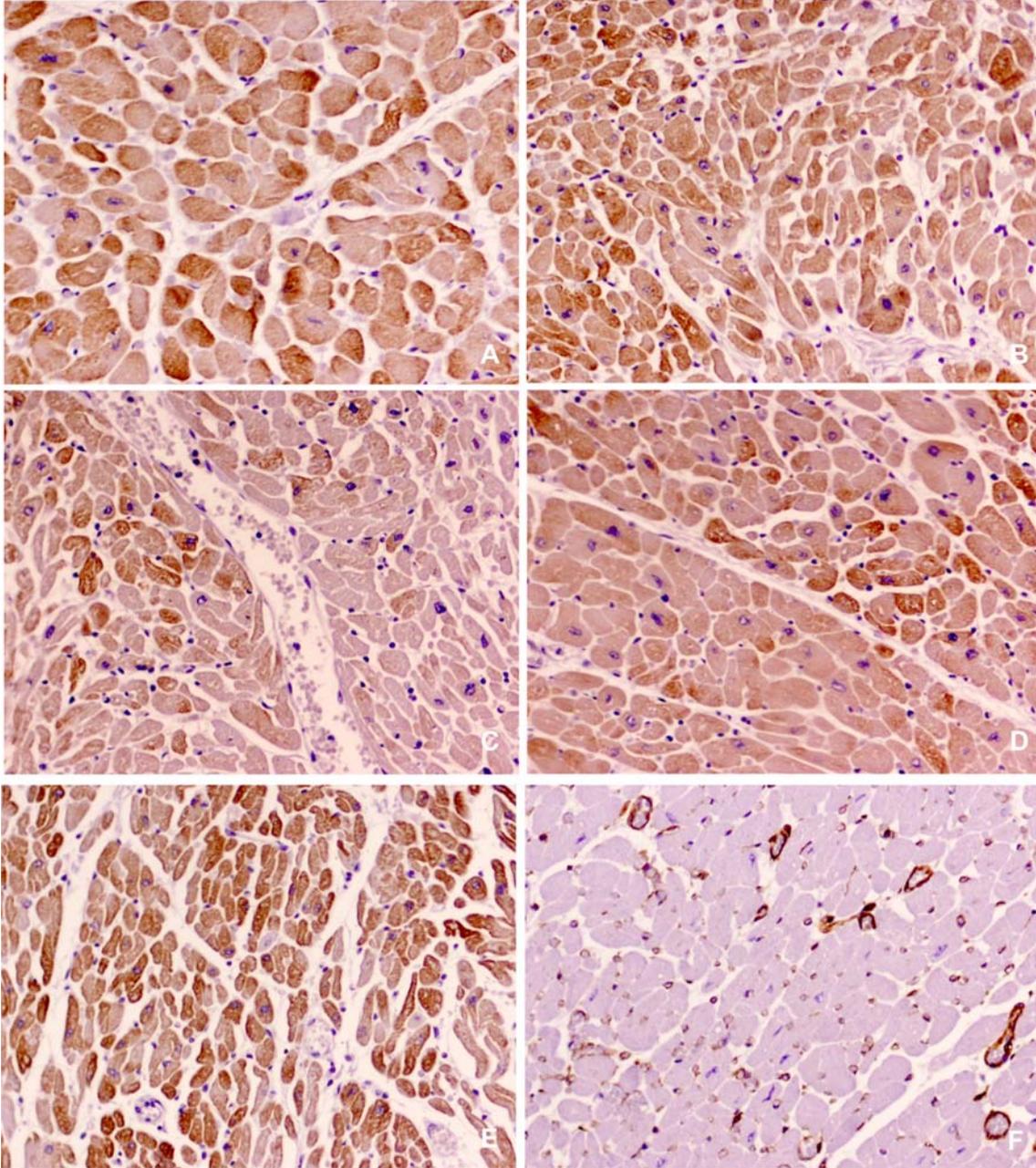


A: Infarto de miocardio, B: Traumatismo, C: Asfixia por ahorcadura, D: Asfixia por sumersión, E: Otras causas de muerte natural, F: Control de inmunotinción sección infarto de miocardio con vimentina.

Figura 38. Matriz de tejido (tissue array) inmunoteñido frente a troponina I (Polímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB).

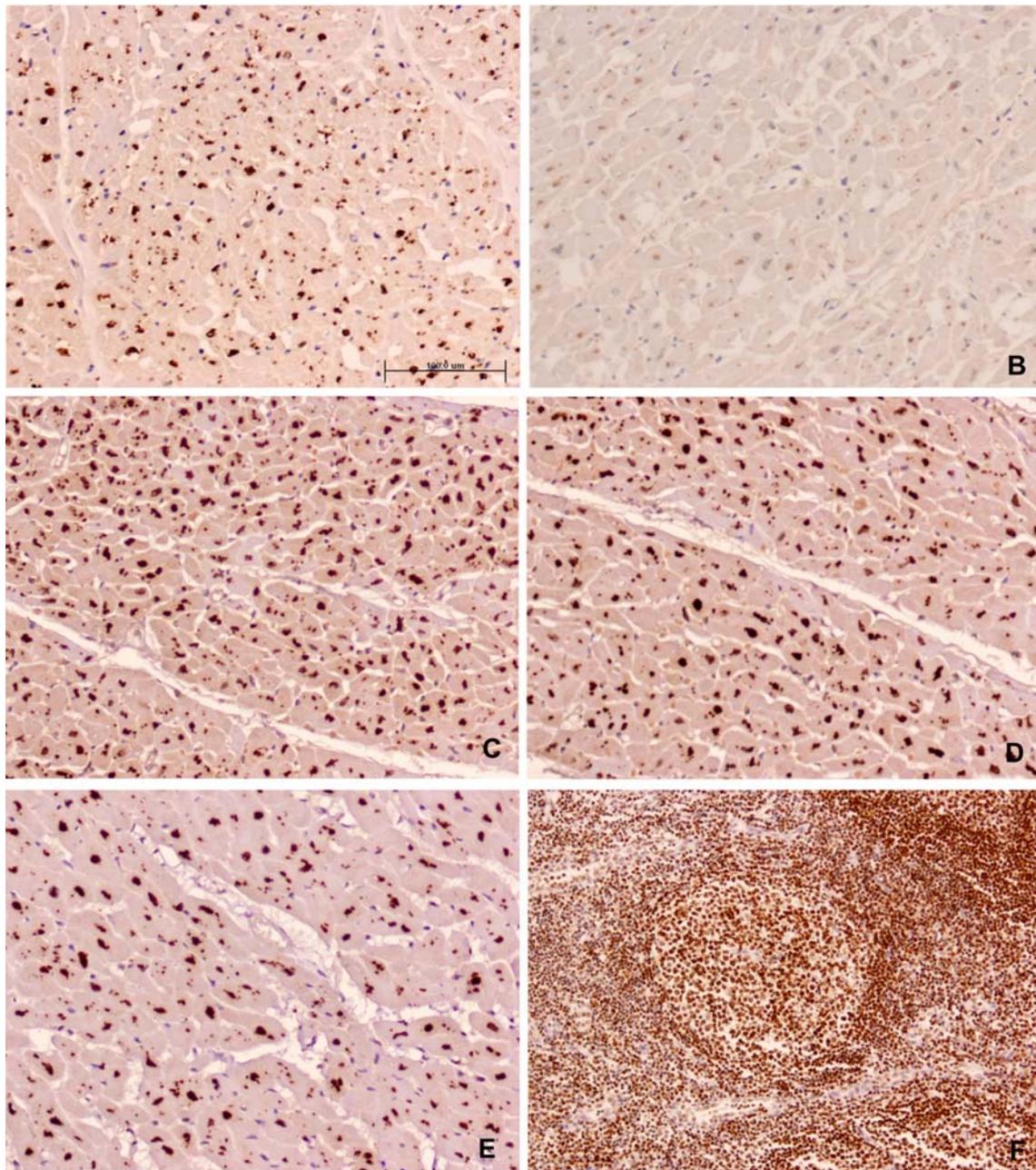


Figura 39. Imágenes representativas de la expresión inmunohistoquímica de troponina I en las diferentes causas de muerte (Polímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB).



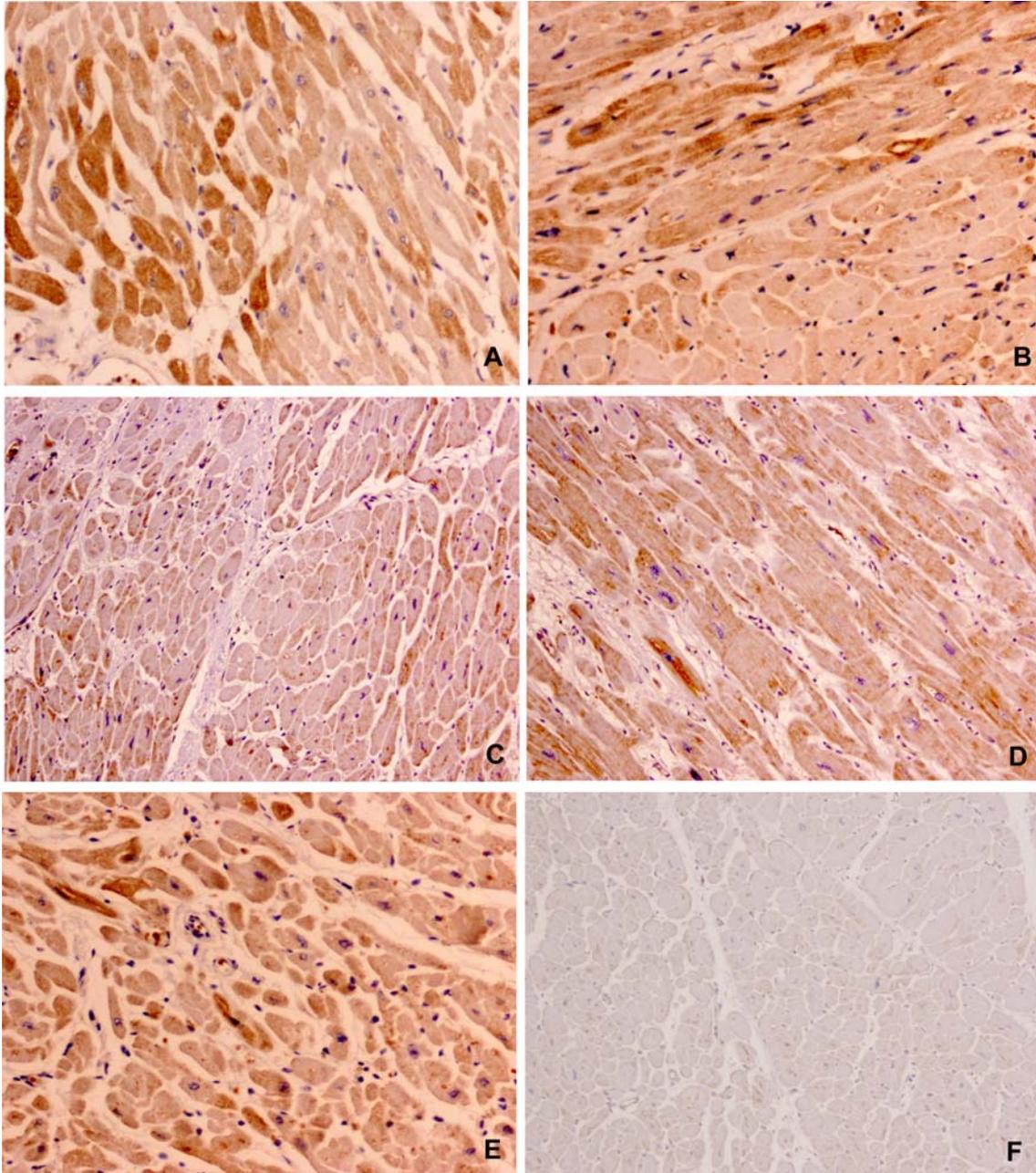
A: Infarto de miocardio, B: Asfixia por sumersión, C: Otras causas de muerte natural, D: Traumatismo, E: Asfixia por ahorcadura, F: Control de inmunotinción sección infarto de miocardio con vimentina.

Figura 40. Imágenes representativas de la expresión inmunohistoquímica de Poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP1) en las diferentes causas de muerte (Polímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB).



A: Infarto de miocardio, B: Asfixia por ahorcadura, C: Asfixia por sumersión, D: Traumatismo, E: Otras Causas de muerte natural, F: Control positivo en amígdala.

Figura 41. Imágenes representativas de la expresión inmunohistoquímica de Nogo-A en las diferentes causas de muerte (Polímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB).



A: Infarto de miocardio, B: Otras causas de muerte natural, C: Asfixia por sumersión, D: Asfixia por ahorcadura, E: Traumatismo, F: Control isotipo negativo en tejido cardíaco.

8. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Como ya hemos mencionado en apartados anteriores de este trabajo, hay casos en los que llegar al diagnóstico de la causa fundamental del fallecimiento, así como al esclarecimiento de las circunstancias que lo rodearon, es una tarea muy difícil utilizando sólo los datos obtenidos a partir de la observación directa durante la autopsia.

En el caso concreto de las muertes por infarto agudo de miocardio, existen lesiones macroscópicas que permiten establecer el diagnóstico de forma inequívoca, como por ejemplo la rotura del tabique interventricular, trombosis y oclusión total de la luz en arterias coronarias, establecimiento claro de una zona necrótica, etc. Sin embargo, en la práctica son muchos los cadáveres en los que no son evidentes esos signos. En estos casos es donde adquieren todo su valor las técnicas diagnósticas complementarias, destacando los exámenes morfológicos microscópicos y la determinación de los niveles de los marcadores cardíacos bioquímicos, cuyo análisis ha sido el objeto del presente trabajo.

El fin último de todas estas exploraciones complementarias y de todas las restantes técnicas empleadas durante la realización de la autopsia es llegar a la certeza objetiva de la causa del fallecimiento, llamada por algunos autores “certeza física”, entendiéndose como tal aquella que es “capaz de ser medida y de dar a conocer el tanto por ciento de sus probabilidades de error” (Gisbert Calabuig et al., 2004).

Un aspecto importante que debe ser tenido en cuenta es el hecho de que la interpretación de los datos obtenidos mediante el estudio anatomopatológico deberá realizarse con gran cautela, ya que, como se ha mencionado en la introducción de este trabajo, el infarto de miocardio es un fenómeno biológico cronodependiente, que necesita un intervalo de tiempo para su instauración y, por tanto, para que pueda ser evidenciado mediante exámenes anatomopatológicos.

Por otra parte, hay numerosas ocasiones en las que la isquemia no se produce como consecuencia de lesiones anatómicas evidentes a la observación, como por ejemplo obstrucciones coronarias, malformaciones en los vasos, situaciones que provoquen un incremento en la demanda de oxígeno (hipertrofia severa, etc.), sino que la isquemia pudo originarse por situaciones que provoquen una alteración funcional sin lesiones ni

signos evidentes en el estudio post mortem, como es el caso del vasoespasmio coronario o alteraciones de la conducción eléctrica cardíaca (arritmias).

Otro aspecto a tener en cuenta es el hecho de que el simple hallazgo durante la autopsia de lesiones obstructivas parciales en las arterias coronarias, incluso si son severas, no es suficiente para poder llegar a la conclusión de forma inequívoca de que la causa inmediata del fallecimiento, en ausencia de otros hallazgos, haya sido el infarto agudo de miocardio.

Es por ello que se debe profundizar más en la búsqueda de marcadores bioquímicos que actúen como indicadores de sufrimiento cardíaco. Éstos podrán complementar el resto de hallazgos de la necropsia y así conducirnos al establecimiento de la certeza física en el diagnóstico post mortem de infarto agudo de miocardio.

El primer punto que nos planteamos al realizar el estudio es que fuera una investigación que tuviera una utilidad práctica o necesidad no cubierta o que cumplimentara a otras que lo hacían en parte. Patólogos, forenses, peritos se encuentran en la práctica clínica y médico-legal diaria con la necesidad de emitir un informe o diagnóstico con repercusiones legales que tropieza con la dificultad de diferenciar entre causa y consecuencia de la causa de muerte. El corazón siempre está de una u otra forma implicado

Una vez seleccionado el tema y diseñado el estudio y escogidos los marcadores, lo primero que nos planteamos fue la validez del estudio, es decir, descartar los posibles sesgos o errores que se puedan haber cometido, sobre todo en aquellos parámetros que pudieran tener alguna relación con el intervalo *post mortem*. Además se valoró que edad y sexo no tuvieran relación con los parámetros estudiados, sin encontrar ninguna relación.

En lo que respecta a la posible interacción de la data de la muerte con los resultados bioquímicos obtenidos, los niveles de cTnI y CK-MB en suero periférico y líquido pericárdico en el cadáver en general muestran una elevación leve y gradual *post mortem* dependiente del intervalo *post mortem*. Esta elevación, en el caso concreto de cTnI es mayor para ciertas causas de muertes específicas, incluyendo infarto agudo de miocardio (IAM), enfermedades cerebrovasculares (ECV), hipertermia, abuso fatal de metanfetamina (MA) e intoxicación de monóxido de carbono (CO). Sin embargo es

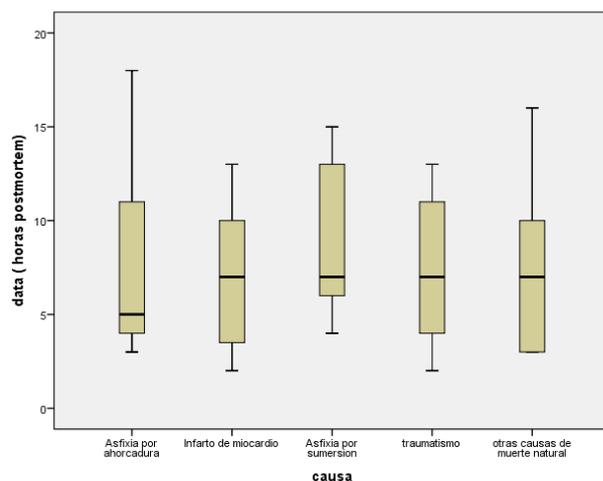
insignificante para el infarto de miocardio recurrente (IMR), las enfermedades congestivas crónicas corazón (ECC) y las asfixias mecánicas. La elevación post mortem de CK-MB es mayor para la intoxicación por CO o muertes por aspiración e insignificante para asfixia por ahogamiento (Zhu, 2007). Cuando se intentó buscar una correlación no paramétrica enfrentado el intervalo post mortem frente a los distintos parámetros estratificados para cada una de las causas, para rechazar la hipótesis nula la mayor significación obtenida para el test de Kruskal-Wallis fue de 0.078. Ese análisis es importante ya que si hubiera habido alguna significación se cometería un sesgo que podía invalidar parte del estudio. Tampoco la hubo cuando se enfrentó el intervalo *post mortem* frente a peroxidación para cada una de las causas por separado ni tampoco para ninguno de los parámetros estudiados. Lo mismo pasó con el parámetro edad, sexo y resto de parámetros del estudio.

La ausencia de relación entre intervalo *post mortem* y los parámetros se confirmó con una correlación tanto de Pearson como Spearman con coeficiente de correlación de 0.06 y 0.014, respectivamente lo cual nos valida los intervalos de toma de muestra para todos los casos. Los datos los podemos apreciar la gráfica 44.

Al respecto, hemos de recordar que todos los cadáveres tenían una data conocida que oscilaba entre 5 y 24 horas con una media de 15.27 ± 5.67 horas y que los cadáveres se mantuvieron refrigerados a 4°C desde el momento de su recepción en el Instituto de Medicina Legal hasta la realización de la autopsia

En trabajos realizados por Pérez-Cárceles et al. (1995a,b) y Osuna et al. (1998, 1999) se analizó la posible interferencia introducida por los fenómenos autolíticos en las concentraciones de marcadores bioquímicos cardíacos utilizados en el diagnóstico *post mortem* y no se observa una correlación significativa entre la data de la muerte y las concentraciones de los diferentes marcadores en cadáveres conservados y con datas inferiores a 72 horas.

Figura 44



A la vista de estos resultados, podemos concluir que nos encontramos ante una data idónea, a la que se une la refrigeración del cadáver en la sala de autopsias, lo que nos puede permitir obtener conclusiones válidas sobre el comportamiento de los marcadores y estudios analizados.

Todos los marcadores bioquímicos utilizados cumplen las características que Adams et al. (1993) y Bakker et al. (1993) establecieron como las ideales a cumplir por un marcador bioquímico de sufrimiento miocárdico. Estas son:

1. Debe encontrarse en concentraciones elevadas en el tejido miocárdico y bajas en suero.
2. Debe ser específico de miocardio y no hallarse en otros tejidos, ya sea en trazas o como consecuencia de situaciones patológicas.
3. Debe ser liberado sólo como consecuencia de lesión celular miocárdica, y esa liberación debe producirse de forma rápida.
4. Debe proporcionar una base fidedigna para el diagnóstico y valoración cuantitativa de la lesión, siendo sus niveles proporcionales a la extensión de dicha lesión.
5. Debe permanecer en suero varias horas, de forma que proporcione una adecuada “ventana diagnóstica”. Este tiempo no debe ser muy prolongado, para no enmascarar el diagnóstico de posibles reinfartos.

6. Debe poder detectarse mediante una técnica sencilla, rápida, exacta y de un coste razonable.

Como en el apartado de la introducción hemos señalado, las troponinas cardíacas constituyen en la actualidad el nuevo criterio de referencia en el diagnóstico de laboratorio del infarto agudo de miocardio, debido a su alta eficacia diagnóstica. Las troponinas cardioespecíficas muestran una muy alta sensibilidad y especificidad como marcadores de necrosis miocárdica, tanto en pacientes con o sin diagnóstico electrocardiográfico (Hillis & Fox, 1999; Wu et al., 1999; Gerhardt et al., 2000).

En los últimos años, la utilización de las troponinas séricas en el diagnóstico de los síndromes coronarios agudos ha aumentado al demostrarse una mayor sensibilidad en relación a la fracción MB de la CK, que era el marcador tradicionalmente utilizado (Pagani et al., 2001). Su determinación ha mostrado también una gran utilidad como consecuencia de la gran ventana diagnóstica que provoca su liberación al torrente sanguíneo tras un infarto agudo de miocardio en pacientes que son ingresados en un hospital con síntomas inespecíficos o que los presentan numerosos días después del inicio de la sintomatología (Panteghini, 1999; Chapelle, 1999; Jaffe et al., 2000).

La capacidad pronóstica que tienen las troponinas séricas se atribuye principalmente a la capacidad que tienen para detectar microinfartos, áreas de necrosis demasiado pequeñas para producir cambios electrocardiográficos o incremento de las enzimas cardíacas en suero.

En nuestro estudio hemos utilizado el líquido pericárdico, un fluido de gran utilidad diagnóstica en el análisis post mortem, como previamente han demostrado numerosos autores, reflejados en la introducción. Así lo demuestran los resultados obtenidos en el tratamiento aplicado.

En Líquido pericárdico tanto la CKMB como cTnI, pudieron diferenciar entre “IM” y el resto de los grupos (asfixias por ahorcamiento, sumersión y otras causas de muerte natural) salvo traumatismos. El valor del porcentaje sobre el total de las isoformas MBmb1, del MBmb2 en líquido pericárdico diferenció “IM” frente a “asfixia por sumersión” y “otras causas de muerte natural”.

En Suero la utilización de de parámetros bioquímicos como CKMB, o el valor de la Isoforma Cardíacas MBmb2 sobre el Total de MB pudieron diferenciar “muertes por asfixia por umersión vs traumatismos”.

La presencia de isquemia miocárdica aguda es la causa más frecuente de incremento de las concentraciones de CKMB, cTnI y cTnT y comprenden más del 60% de los valores aumentados. Es de interés el hecho de que los pacientes con microinfartos muestran con mayor frecuencia valores incrementados que los que presentan infartos de mayor tamaño.

La cTnI es el marcador más específico para el diagnóstico de daño miocárdico. Como vemos, la cTnI reúne las características que más hay que considerar a la hora de valorar la utilidad de un marcador bioquímico en el diagnóstico *post mortem* del sufrimiento cardíaco.

Se han descrito algunos problemas derivados del uso de la cTnI que se manifiestan en el hallazgo de diferencias en las concentraciones observadas de hasta 20 veces. Estas discrepancias pueden ser el resultado de la liberación de numerosos productos derivados de modificaciones de la cTnI presentes en el miocardio isquémico. Modificaciones post-translacionales, incluyendo una degradación selectiva, la formación de complejos covalentes y la fosforilación de la cTnI se han observado en el miocardio de ratas tras los procesos de isquemia / reperfusión y en el miocardio postisquémico (Jaffe et al., 2000). En el miocardio humano la proteólisis de la cTnI es más intensa y compleja, en parte debido a la heterogeneidad de la enfermedad presente en una población determinada. El significado de esta liberación de productos modificados no ha sido investigado, a pesar de la posible importancia clínica como un dato correlacionado con la subsiguiente progresión de la enfermedad isquémica cardíaca.

Por otra parte, se ha observado que un alto porcentaje de pacientes con fracaso renal en los últimos estadios de la enfermedad muestra un incremento de los niveles de cTnT en ausencia de isquemia cardíaca aguda (Ooi et al., 1998; Heeschen et al., 2000). Se sugiere que este incremento representa falsos o espúreos incrementos como consecuencia de la reexpresión de isoformas cardíacas, la forma fetal, en la musculatura esquelética de estos pacientes. McLaurin et al. (1997), Ooi et al. (1999) observaron en un año un incremento tres veces mayor de la mortalidad en 172 pacientes

hemodializados con incremento de cTnT frente a los que no lo tenían, y aunque este incremento puede ser el resultado de infartos silentes, el patrón de elevación no se corresponde con el de procesos isquémicos agudos. Así pues, el incremento de cTnT en estos pacientes acrecienta la posibilidad de que sea un indicador de procesos crónicos en los que está en peligro la vida del paciente.

Pagani et al. (2001) comparan el valor diagnóstico de la cTnI y la cTnT en una población no seleccionada ingresada en una unidad de Medicina General por diferentes patologías. La elevación de ambas troponinas se asocia con una sensibilidad diagnóstica con el infarto agudo de miocardio, siendo del 100% para la cTnI y del 98% para la cTnT, y la especificidad es también un poco más elevada para la cTnI (78.7%) que para la cTnT (68.1%). Incrementos en las concentraciones de cTnI y de cTnT se observaron en 15 pacientes de los 39 sin síndrome coronario agudo. También se observaron niveles elevados de ambas troponinas en 8 pacientes con importantes alteraciones clínicas y complicaciones. Las discordancias en las concentraciones de ambas troponinas fueron más frecuentes a favor de incrementos de cTnT.

En pacientes con infarto agudo de miocardio, resultados discordantes se encontraron en un solo paciente, en el que se da un falso negativo en los valores de cTnT que se asocia a una elevación pequeña de la cTnI. En este paciente la toma de la muestra se realizó 144 horas después del inicio de los síntomas, típicamente en el extremo límite de la ventana diagnóstica para estos marcadores. Pagani et al. (2001) realizan un estudio comparativo entre la cTnI y la cTnT en muestras de rutina obtenidas en un servicio hospitalario no cardiológico y encuentran una sensibilidad semejante entre ellas y una especificidad mayor para la cTnI, aunque no significativa. De acuerdo con un estudio de Hetland et al. (1998) las discordancias encontradas entre los niveles de cTnI y cTnT se encuentran más a favor de un incremento de la cTnT que de la cTnI.

Este hecho tiene dos interpretaciones: la cTnT es más sensible para la detección de la lesión miocárdica focal que la cTnI o que la cTnT se asocia realmente a una menor especificidad para la lesión miocárdica que la cTnI.

Pagani y cols. (2001) concluyen que se obtiene una eficacia diagnóstica comparable entre la cTnI y la cTnT. Según Jaffe (1999) la concordancia entre los falsos positivos de la cTnI y la cTnT en casos sin síndrome coronario puede explicarse en la detección de lesiones miocárdicas mínimas que no son diagnosticadas mediante los métodos

diagnósticos convencionales. La cTnT aumenta con más frecuencia en pacientes sin enfermedad coronaria manifiesta, aunque la significación clínica de este hecho no ha sido determinada. No está clara su utilidad como alternativa diagnóstica en estos pacientes, como marcador “centinela” que pudiera mostrar niveles anormalmente altos incluso antes de aparecer los síntomas de la enfermedad coronaria.

Ooi et al. (2000) se plantearon analizar los incrementos de cTnT en patologías miocárdicas de tipo subclínico. Para ello realizaron un estudio *post mortem* en 66 cadáveres correlacionando muestras de suero *ante mortem* en las que determinan los niveles de CK, CKMB, cTnI y cTnT y correlacionan los hallazgos con los resultados obtenidos tras el análisis *post mortem* del tejido cardíaco.

Encuentran incremento de CK en 3 de los 15 pacientes que no presentan alteraciones miocárdicas y cTnI con concentraciones muy próximas al punto de corte en un caso. En pacientes con patología miocárdica, es más frecuente el incremento de los niveles de cTnT. Aunque el aumento de CK se observa sin un incremento de los otros marcadores, el aumento de CK-MB se correlaciona con el de cTnI y cTnT en todos los pacientes. De la misma forma todos excepto uno de los pacientes con aumento de cTnI tenían valores elevados de cTnT. Las medianas de las concentraciones y los porcentajes de pacientes con valores elevados de CKMB, cTnI y cTnT son mayores en los pacientes con patología miocárdica. Esto no ocurre para la CK. Sin embargo la odds ratio para la presencia de infarto de miocardio agudo es significativa para la cTnI y cTnT sólo y para la presencia de insuficiencia cardíaca congestiva y otras patologías cardíacas es significativa sólo para la cTnT.

Cuando son tenidas en cuenta todas las patologías cardíacas, las sensibilidades son 38%, 26%, 44% y 53% para CK, CKMB, cTnI y cTnT respectivamente. La especificidad para la CK es del 80% y para el resto de los marcadores del 100%.

Para el infarto agudo de miocardio las especificidades para la CK, CKMB, cTnI y cTnT son del 75%, 92%, 87% y 73% respectivamente. La sensibilidad clínica para el infarto agudo de miocardio es del 22%, 19%, 48% y 62% respectivamente.

Cuando nos referimos a muestras obtenidas en los 6 días previos al fallecimiento las sensibilidades varían ostensiblemente, siendo del 17%, 22%, 61% y 70%

respectivamente, y se incrementan si nos referimos a muestras procedentes de los 3 días previos a la muerte.

Para el infarto agudo de miocardio la sensibilidad de la cTnT no muestra diferencias significativas con la de la cTnI pero sí con la CKMB y CK. Para el resto de las patologías cardíacas la sensibilidad de la cTnT sobre la de la cTnI no alcanza significación estadística.

Morrow et al. (1999) analizan la eficacia de tres técnicas diferentes de determinación de cTnI en el laboratorio clínico como métodos diagnósticos y pronósticos del infarto de miocardio y de la revascularización urgente, así como su correlación con los niveles de CK-MB. La mayor capacidad diagnóstica y pronóstica se obtiene con la cTnI con una odds ratios de 2.1-2.9 ($P < 0.0006$).

Apple et al. (2000) evalúan la sensibilidad y especificidad diagnóstica de diferentes marcadores bioquímicos utilizados en servicios de urgencia (mioglobina, creatin kinasa masa, cTnI y CK total masa) en sangre total en pacientes que presentan dolor torácico, para confirmar o descartar un infarto de miocardio. Para ello analizan muestras procedentes de 166 individuos aparentemente sanos y 369 pacientes con un síndrome coronario agudo con dolor torácico sugerente de isquemia miocárdica; de ellos 89 presentaban un infarto de miocardio agudo. Las muestras fueron recogidas en el momento del ingreso y a las 3, 6 y 24 horas del ingreso. Con un intervalo de confianza del 95% obtienen las sensibilidades y especificidades en los puntos de corte siguientes: para la cTnI con un punto de corte de 0.4 $\mu\text{g/L}$ obtienen una sensibilidad del 93% y una especificidad del 94%; para la CKMB un punto de corte de 7.0 $\mu\text{g/L}$, y una sensibilidad y especificidad del 90% y 90% respectivamente; para la mioglobina un punto de corte de 100 $\mu\text{g/L}$ y una sensibilidad y especificidad del 81% y 81% y finalmente para la CK total con niveles de 190 $\mu\text{g/L}$ una sensibilidad del 86% y una especificidad del 86%.

Así pues, los hallazgos de los diferentes estudios consultados confirman la mayor sensibilidad clínica de las troponinas séricas sobre la CK y CKMB en los síndromes coronarios agudos. En muchos de los pacientes con incrementos “borderline” de las concentraciones de troponina sérica se observan pequeños microinfartos *post mortem*. Un importante hallazgo de Ooi et al. (2000) es la presencia de cambios histológicos en los corazones de casi todos los pacientes con concentraciones elevadas de CKMB, cTnI y cTnT. En muchos casos se trata de pacientes en los que no hay sintomatología ni

signos clínicos de infarto. El porcentaje de pacientes con un incremento de cTnI es muy similar al de los que tienen un incremento de cTnT (50% vs 63%). El porcentaje un poco mayor en el caso de sujetos con niveles elevados de cTnT puede explicarse por su más prolongada vida media que hace que en ellos sea más probable que en un estudio simple estratificado puedan observarse niveles elevados.

Cina et al. (2001) analizan la utilidad de la cTnT como test diagnóstico cualitativo en la sala de autopsias. Dressler y cols. (1998) muestran su utilidad para discriminar la contusión cardíaca de los artefactos producidos tras la aplicación de maniobras de resucitación cardiopulmonar. Encuentran algunas limitaciones de esta prueba en muestras previamente congeladas o hemolizadas, por lo que recomiendan la utilización de muestras de sangre periférica procedente de la subclavia o de la femoral obtenida en un plazo de 24 horas. Una ventaja que muestran es su especificidad. En la mayoría de las ocasiones las discrepancias que encuentran entre los hallazgos anatomopatológicos y los obtenidos en los niveles de cTnI es irrelevante. Tres falsos negativos se correspondieron con arritmias cardíacas con mínimos hallazgos en la autopsia. Encuentran un falso positivo en un sujeto fallecido por una sobredosis de heroína en el que el peso del corazón es de 800 g y se observa una importante fibrosis intersticial miocárdica. Los autores llegan a postular su uso en casos en los que no se observan alteraciones anatomopatológicas e incluso en situaciones en las que podría obviarse la realización de la autopsia. En nuestra opinión las pruebas bioquímicas siempre deben ser complemento de una investigación exhaustiva del cadáver y en ningún momento se puede obviar la realización de una autopsia completa del cadáver. Además en este estudio se realiza una prueba cualitativa que en determinadas situaciones límite puede ser difícil de interpretar. Sin duda alguna, el estudio que hemos realizado en el que concurren la determinación de diferentes marcadores bioquímicos (mioglobina, CKMB y cTnI y sus cocientes líquido pericárdico/suero) que muestran porcentajes de sensibilidad y especificidad diferentes y el análisis macroscópico y microscópico que una autopsia completa exige reduce sensiblemente el número de casos en los que la interpretación de la causa de la muerte y las circunstancias que la acompañan es compleja.

La cTnI determinada en tejido también diferenció entre causas de muertes naturales frente a suicidas y accidentales mediante la media de la Intensidad.

Ooi et al. (2000b) demostraron correlación entre los niveles de CK-MB, cTnI y cTnT y cambios histológicos cardíacos significativos en autopsias de pacientes sin clínica de IAM. Cina et al. (2001) demostraron que la determinación de cTnT cardíaca podría discriminar si la víctima de un accidente de tráfico ha sido causada por un IAM siempre y cuando no hubiera lesiones torácicas.

La elevación en sangre de los marcadores cardíacos, como los estudiados por nosotros, reflejan la necrosis tisular cardíaca, sin embargo no nos habla sobre el mecanismo etiológico subyacente, aunque se han relacionado con la causa de muerte debido al daño isquémico, hipóxico y / o daño miocárdico citotóxico. Los niveles elevados de cTnI y CK-MB en sangre periférica y líquido pericárdico aumentan después de la muerte (Zhu, 2007) y la estimación de la relación cTnI /CK-MB es independiente del intervalo *post mortem* para la toma de muestra.

Una posible explicación a las diferencias encontradas en las concentraciones séricas entre los diferentes grupos en los que hemos categorizado nuestro estudio viene determinada por las características del parámetro bioquímico que se libera como expresión de la lesión muscular. A este respecto, la mioglobina es un marcador que presenta una gran sensibilidad, pero una baja especificidad (Luna et al., 1982; 1983; Cairns et al., 1983; Grenadier et al., 1983; Stone & Willerson, 1983; Stewart et al., 1984; Hoberg et al., 1987) y su liberación viene determinada por una lesión muscular independientemente de la procedencia. Así pues, sus concentraciones en los diferentes fluidos aumentarán ante la existencia de un sufrimiento muscular esquelético. En estudios previos, realizados por el grupo de investigación del Área de Medicina legal y Forense de la Universidad de Murcia (Osuna et al., 1998; Pérez-Cárceles et al., 2004; Martínez-Díaz et al., 2005), la cTnI presenta una alta sensibilidad además de una elevada especificidad para el diagnóstico clínico del infarto agudo de miocardio, aspectos comentados en la introducción de esta memoria Doctoral, por lo que sus mayores concentraciones se encuentran en sujetos fallecidos por esta patología. Estos autores concluyen sobre el valor diagnóstico que posee la determinación de marcadores bioquímicos en los fluidos del cadáver para descartar una muerte de etiología cardíaca, dada la gran especificidad diagnóstica que presentan.

En nuestro caso cuando estudiamos los valores en suero de CK-MB, encontramos que solo las “asfixias por sumersión” presenta valores muy bajos en relación al resto,

mostrando una significación estadística con la prueba U de Mann-Whitney en la comparación de parejas vs “traumatismo” con $P=0.028$ y marginal para IM con $P=0.088$. El resto de las causas también presentaron valores elevados, pero no significativos (Figura 32).

La determinación de CK-MB en suero no presentó significación estadística cuando fueron estratificados por GRUPO 2 (muerte accidental, natural, suicida). Sin embargo, la CK-MB en líquido pericárdico estratificada por GRUPO 1 mostró diferencias significativas al comparar el grupo de “IM” con los grupos de “asfixia por ahorcadura, asfixia por sumersión y otras causas de muerte natural” (con $P=0.031$, $P=0.002$ y $P=0.004$ respectivamente). Sin embargo, no se observan diferencias con el grupo de traumatismo.

Idénticos resultados se obtuvieron con la cTnI en Lpc (con $P=0.044$, $P=0.019$ y $P=0.003$ respectivamente). Además la estratificación frente a GRUPO 2 pudo diferenciar las muertes “natural vs accidental” (sig. test U de Mann-Whitney para la comparación de parejas $P=0.032$).

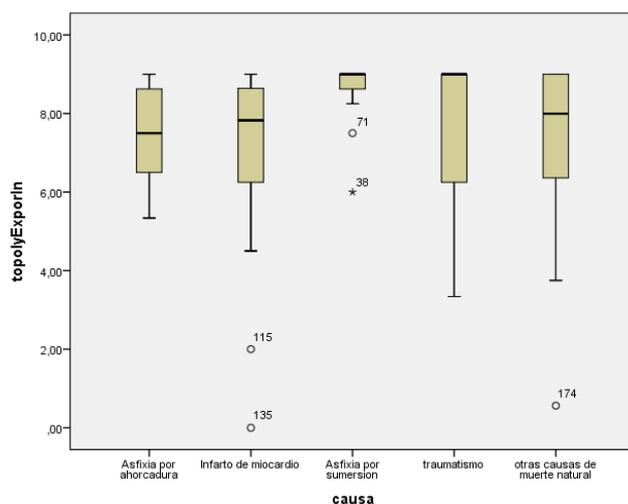
Por el contrario, la determinación de cTnI en suero no proporcionó ninguna significación estadística.

La secuencia de liberación del marcador cardiaco al Lpc y de este a suero y la depleción histórica de dichos marcadores cardiacos debe de estar en relación con los valores obtenidos en las distintas patologías en cada uno de los compartimentos cuando estemos trabajando con marcadores estructurales. Ejemplo de ello son los valores bajos de CK-MB en suero obtenido por las muertes por asfixia por sumersión. Este concepto no se debe de aplicar a marcadores funcionales.

Aparte de tener en cuenta la cinética de liberación en caso de daño cardiaco hay que tener presente lo que ocurre con las cTn cuando están todavía en el tejido y no se han liberalizado, un 6-8% de cTnT y un 2-8% de cTnI se encuentran libres en el citoplasma (Apple, 2012). Esto explica la liberación bifásica cuando existe daño miocárdico. Primero se liberaría la parte soluble, seguida más tarde de la parte de los complejos estructurales. Esto a su vez explica la relación no totalmente cierta entre los 3 compartimentos (histico, Lpc y suero) como son este caso que nos ocupa, que son prácticamente estructurales pero no del todo. Hay que tener en cuenta lo que ocurre con

la TnIc cuando está todavía en el tejido y no ha dado tiempo a liberarse a Lpc. Se podrían o no obtener los mismos resultados con TnTc y esto podría ser o no lógico con lo publicado ya que este marcador tiene menor intensidad que la TnIc (ver valores medios en las tablas de estadística descriptiva). Así, los valores medios para todos los casos son para la TnIc de 2.72 ± 0.45 para intensidad y 2.74 ± 0.36 para extensión vs TnTc con 0.99 ± 0.99 en intensidad y 1.01 ± 0.99 para la extensión. Además TnTc tarda más tiempo en liberarse al torrente sanguíneo y líquido pericárdico [esto puede ser debido a su tamaño molecular cTnI (23 KDa) y cTnT (34 kDa)]. A este hecho hay que sumar que la media de TnIc tiene unos coeficientes de variación muchos más estrechos que TnTc (prácticamente un tercio menos). A la hora de la lectura, la lectura manual (semicuantitativa) o automática, TnIc presenta mayor intensidad que TnTc, exactamente 3 veces más. Por esta razón consideramos que cTnI es mejor marcador que cTnT para nuestro objetivo y así lo demuestra la significación estadística obtenida.

Figura 45



La determinación de las isoenzimas e isoformas cardiacas, ha caído en desuso desde el uso de troponinas. De hecho, en las guías de la tercera definición de IM de la “ESC/ACCF/AHA/WHF *Expert Consensus Document*” se desaconseja ya su uso por obsolescencia. Sin embargo para el objetivo de nuestro estudio se mostró eficaz su determinación para nuestra aplicación de diferenciar en suero “asfixia por sumersión”

frente a “traumatismo” con el porcentaje de la fracción MBmb2 sobre MB total en suero. Además el porcentaje de las isoformas MBmb1 y MBmb2 en líquido pericárdico diferenciaría “IM” frente a “asfixia por sumersión” y “otras causas de muerte natural”.

Como hemos comentado con anterioridad, diferentes estudios de TnTc o TnIc se han realizado en suero, líquido pericárdico e histológicos y diferentes autores (Osuna et al., 1998; Cina et al., 2001; Perez-Cárceles et al., 2004; Martínez-Díaz et al., 2005; Jaffe et al., 2006; De Lemos et al., 2010; Aissaoui et al., 2013) informaron sobre la relación existente entre las concentraciones de dichos marcadores con la muerte por IM. En un estudio experimental realizado por Fishbein en 2012 en secciones de tejidos cardiaco fijados en formalina de diferentes especies animales en tinciones inmunohistológicas con diferentes anticuerpos monoclonales de cTnT y cTnI demuestra que pueden ser utilizados para visualizar las troponinas sobre tejido, aunque las pérdidas no son uniformes siendo mayores en el área periférica y central del infarto. Estas pérdidas eran mayores para troponina cTnT que cTnI. Dichas pérdidas ocurren muy precozmente tras la isquemia por oclusión, en concreto, a partir de los 30 minutos. Tras la oclusión queda una tinción residual persistente por horas que coincide con la salida y elevación de troponinas en suero en pacientes con IM. No se observó pérdida en la parte del corazón no necrótico.

Tras la reperusión, los resultados fueron similares a los que tuvieron una oclusión permanente, excepto que fue mayor el contraste entre región periférica y región central de la isquemia.

Los cambios en la tinciones de cTnT y cTnI precedieron a la evidencia histológica de necrosis, pero esto no ocurría en corazones no necróticos, afirmando que las tinciones inmunohistoquímicas de TnTc o TnIc pueden ayudar a diferenciar en las mayorías de las necropsia difíciles las muertes por isquemia miocárdica.

Cuando realizamos el análisis estadístico buscando una relación entre causa de muerte y cortes histológicos de troponinas I o T, no encontramos ninguna significación estadística para cTnT. No se encontró ni en las lecturas parciales de las 10 áreas estudiadas: Solo el cálculo de la “media de la extensión” pudo diferenciar muertes por “traumatismo” frente a “otras causas de muertes naturales” (análisis discriminado frente a GRUPO 1 mediante ImageJ) y muertes “accidental” frente a “natural” (Análisis

discriminativo frente a GRUPO 2 manual semicuantitativo). A su vez la media de la Intensidad de cTnI diferenció significativamente las muertes “suicidas” frente a las “naturales”. (Análisis discriminativo frente a GRUPO 1 manual semicuantitativo).

La ausencia de significación estadística con el IM en cortes histológicos pensamos que se debe a que en los grupos etiológicos son grandes “cajones de sastre” donde se incluyen distintos procesos que albergan como en el caso del IM una amplia variedad de causas (trombosis coronarias, anemia por disminución del aporte de oxígeno, aumento de la demanda de este, arritmias, ángor, SCASEST, SCACEST y un largo etc....) que tienen un origen diferente con un final común. También en casos de IM la severidad y extensión de las lesiones varía en función de la causa y la arteria coronaria afectada. Por poner el ejemplo: la arteria coronaria más frecuente afectada es “la descendente anterior” (D.A). y la intensidad del daño cardíaco va a depender de donde se haya producido la oclusión (a qué distancia se ha producido de la bifurcación de la coronaria izquierda en circunfleja y DA, o el grado de oclusión de la misma (60%, 80% ó 100%).

Otro ejemplo sería las diferentes consecuencias en función de la estructura anatómica a la hora de la irrigación del nódulo sinusal, de cual es la arteria coronaria dominante a la hora de dar dicha irrigación (coronaria derecha o circunfelja o DA o codominancias.) con consecuencias distintas para una misma lesión coronaria.

En **Tejido cardíaco** la utilización de la Lipoperoxidación proporcionó múltiples parámetros dentro de la lipoperoxidación para poder diferenciar “otras causas de muerte natural” frente al resto de causas (IM, traumatismo, asfixias por ahogamiento y por ahorcamiento)

El corazón necesita oxígeno, pero también es susceptible al estrés oxidativo que ocurre durante la reperfusión tras un período de isquemia. El proceso de reperfusión de las células miocárdicas es necesario para salvar el tejido de muerte irreversible. Sin embargo, la reperfusión, incluso después de breves períodos de isquemia, se asocia con cambios patológicos que pueden, tanto acelerar el proceso iniciado durante la isquemia, como provocar nuevos cambios fisiopatológicos que se iniciaron en la reperfusión. A pesar de las posibilidades de salvar tejido miocárdico isquémico, a veces surge una nueva lesión celular que amortigua el efecto beneficioso de la propia repercusión.

Algunos autores han introducido el concepto de “lesión de reperfusión” asumiendo que gran parte del daño generado podría ser consecuencia de acontecimientos que tienen lugar durante los procesos de reperfusión, más que como resultado de cambios bioquímicos durante el período de isquemia. En este sentido, existen evidencias que refieren el papel tan importante de los radicales libres en la patogenia de los daños producidos durante la reperfusión:

El proceso de reperfusión tras un período prolongado de isquemia, se asocia con deterioro de las funciones cardíacas, alteraciones de la membranas celulares, aumento de liberación de enzimas, sobrecarga de calcio intracelular, y muerte ocasional de tejido cardíaco (Lucas, 1998; Ozmen et al., 1999; Zhu et al., 2006) relacionándose con la disfunción transitoria del ventrículo izquierdo. El período posterior a la reperfusión del miocardio isquémico se asocia con una elevada incidencia de alteraciones bioquímicas y electrofisiológicas como taquiarritmias severas que incluyen la taquicardia ventricular y la fibrilación ventricular (Vergely et al., 1998; Ravingerová et al., 1999).

La naturaleza de los acontecimientos que tienen lugar durante estos procesos de isquemia y reperfusión, no está del todo aclarada: si los mecanismos de defensa del miocito se alteran o si aumenta la producción de radicales libres, o ambos procesos. Así, por ejemplo, la producción de H_2O_2 en el miocardio durante los primeros minutos tras la reperfusión y el mecanismo arritmógeno de los radicales libres podría estar relacionado con la inhibición de la $Na^+/K^+-ATPasa$ del sarcolema (Ravingerová et al., 1999).

El objetivo celular y subcelular del ataque de los radicales libres y las consecuencias metabólicas de las alteraciones moleculares resultantes, todavía no se han establecido de una manera clara, si bien está generalmente reconocido su papel en las lesiones cardíacas. En el corazón isquémico y reperfundido, los radicales libres del oxígeno se pueden producir por varios mecanismos que incluyen la reacción xantina/xantina oxidasa y la respiración mitocondrial. La mitocondria consume más del 90% del oxígeno utilizado por las células, y la cadena respiratoria mitocondrial genera un flujo continuo de radicales del oxígeno. Se estima que el 1-4% del oxígeno que reacciona con la cadena respiratoria conduce a la formación de radicales superóxido, que normalmente se inactivan por mecanismos antioxidantes. Esta producción de radicales libres puede intensificarse cuando la respiración mitocondrial se estimula en condiciones de estados redox alterados y de disminución de la disponibilidad de ADP, una condición que puede

ocurrir en corazones isquémicos reperfundidos, por lo que la respiración mitocondrial podría ser una fuente importante de radicales de oxígeno y contribuir, por tanto, a la lesión por reperfusión.

La isquemia intensa no produce la muerte inmediata de las células, ni siquiera en las zonas más intensamente afectadas del miocardio, y no todas las regiones del miocardio sufren igualmente la isquemia. Por eso, el pronóstico de las lesiones distales a una oclusión, una vez restablecido el flujo en un miocardio previamente isquémico, puede variar de un sitio a otro. Una reperfusión miocárdica suficientemente precoz puede impedir totalmente la necrosis. La reperfusión después de un período más largo quizá no evite la necrosis, pero puede impedirla en parte de los miocitos que habrían muerto con una isquemia más prolongada o permanente (Shoen, 2000).

El infarto parcialmente reperfundido, es un infarto hemorrágico porque algunos vasos lesionados durante la fase de isquemia se vuelven permeables al restablecerse el flujo. Además, la desintegración de los miocitos que sufrieron lesiones críticas por la isquemia previa se acentúa o se acelera con la reperfusión. El examen microscópico revela que los miocitos con una lesión irreversible en el momento de la reperfusión presentan con frecuencia necrosis con bandas de contracción. Lo más probable es que estas se deban a una contracción exagerada de las miofibrillas en el instante en que se restablece la perfusión; en ese momento las partes internas de una célula ya muerta, cuyas membranas han sido lesionadas por la isquemia se ponen en contacto con la elevada concentración de iones de calcio que contiene el plasma. Por tanto, la reperfusión no sólo salva las células con lesiones reversibles, sino que además altera la morfología del tejido cuyas células ya están mortalmente lesionadas en el momento de la reperfusión (Shoen, 2000).

Así pues, la “lesión de reperfusión” comparte muchas características con las respuestas inflamatorias en el miocardio; el proceso de isquemia/reperfusión promueve, además de la formación de radicales libres, la liberación de citokinas y otros mediadores proinflamatorios que activan tanto a los neutrófilos como al endotelio de los vasos coronarios. La activación de estas células promueve la expresión de moléculas de adhesión en los neutrófilos y en el endotelio, que recluta neutrófilos en su superficie e inicia una cascada específica de interacciones célula-célula, llevando primero a la

adherencia de los neutrófilos al endotelio vascular, siguiendo después por la migración transendotelial y la interacción directa con los miocitos.

Doménech et al. (2004) en un estudio realizado en cadáveres en el Área de medicina legal y Forense de la Universidad de Murcia en el que analizan los niveles de peroxidación en tejido miocárdico en relación a diferentes causas de muerte encuentran que los niveles más elevados de peroxidación se observan en aquellos casos en los que hay una afectación miocárdica (isquémica o traumática).

En nuestro estudio también hemos obtenido diferencias estadísticamente significativas en la determinación de PARP 1 para poder diferenciar entre muertes por “asfixia por ahorcadura” frente a “asfixia por sumersión”. La utilización de la media de Extensión cTnI en tejido diferenció “otras causas de muerte natural” frente a “traumatismo”. La determinación de Nogo A diferenció “asfixias por sumersión” frente a “IM” .

Al valorar la rentabilidad de los diferentes test utilizados en nuestro estudio para la diferenciación de los distintos grupos. El que menos ha obtenido es el IM. La novedosa definición de I.M (tercera definición de I.M. del año 2012) que estratifica los casos en diferentes grupos en función de cuál sea la causa u origen del infarto puede ayudar a comprender la amplitud del espectro de patologías que actualmente están agrupadas existen bajo ese concepto de IM. Información que trasladada a nuestro estudio nos da idea de las diferentes patologías que forma este grupo, que con circunstancias diferentes conducen a la muerte de una forma común pero con un comportamiento histoquímico diferente en función del origen de esta.

Otro tanto se puede decir de la agrupación bajo el epígrafe de “traumatismo” formado por una variedad de accidentes, desde craneoencefálicos a toracoabdominales, al igual que el grupo de “otras causas de muerte”.

En el polo opuesto tenemos grupos muy homogéneos como puede ser ahorcaduras mecánicas o por sumersión

En relación al Nogo-A encontramos una significación a la hora de diferenciar las muertes ocurridas por muerte “natural” vs. “suicida” con significación estadística (P=0.038, test U de Mann Whitney). y “natural vs accidental” (P=0.035, test U de Mann Whitney). Es decir, diferenció la causas de muerte natural del resto.

Hay altos factores de evidencia en estudios experimentales realizados en cultivos, y animales que señalan que los radicales libres de oxígeno y nitrógeno son generados en las cardiomiocitos (Bhatnagar et al., 1997; Bowes et al., 1999; 1998a; Griendling et al., 2000; Hayashi et al., 2001) y células endoteliales durante el daño isquemia/reperfusión cardiaca, en varias formas de fallo cardíaco, cardiomiopatías, shock circulatorio, envejecimiento cardiovascular, complicaciones diabéticas, miocardiopatías hipertróficas, aterosclerosis y remodelación vascular después del daño cardíaco. La detección inmunohistoquímica de poli(ADP-ribosa) demuestra que PARP es rápidamente activado en la reperfusión del tejido cardíaco. (Fiorillo et al., 2013; Halmosi et al., 2001). Esta activación no se produce más tarde de 2 horas y continúa bastante hasta 24 después de la reperfusión. Este patrón de retraso y mantenimiento en la activación de PARP es debido a la continua presencia de radicales libres tras la reperfusión miocárdica. La zona donde había más activación de PARP era el área de necrosis y zona periinfarto. La mayoría de la tinción de PARP fue vista en los miocitos cardiacos (Pieper et al., 2000; Liaudet et al., 2001b) lo que indica que los cardiocitos producen PARP por si solos además de las infiltración de células mononucleares implicadas en la activación. La auto-inducción de PARP por los cardiocitos inducida tras isquemia/reperfusión puede ser atenuada por inhibidores farmacológicos de PARP (Szabados et al., 2000; Bowes et al., 1998b; Fiorillo et al., 2013). La formación de peroxinitrito fue evidenciada en plasma de la parte de zona isquémica cardiaca reperfundida (Ferdinandy et al., 2003) mediante oxidación de dihydrorhodamina-123 y formación de nitrotirosina (Zingarelli et al., 1997a).

Disponemos de múltiples parámetros dentro de la lipoperoxidación para poder diferenciar “otras causas de muerte natural” frente al resto de las causas. A través de la determinación de los parámetros de lipoperoxidación en suero, líquido pericárdico e hística. El grupo de “otras causas de muerte natural” presenta niveles bajos de lipoperoxidación, frente al resto de grupos que presentan niveles más elevados. Independientemente del parámetro analizado, prácticamente la totalidad (11 de las 11 localizaciones tisulares cardíacas estudiadas pudieron diferenciar entre “otras causas de muerte natural” frente a IM y “traumatismo” ($p < 0.005$, test Kruskal-Wallis) y corregido mediante test U Mann W con $P < 0.005$, $P < 0.025$, respectivamente). Adicionalmente, los niveles medios de lipoperoxidación tisular han demostrado mayor poder discriminante al separar además de los casos anteriores los casos de “asfisia por

sumersión” ($p < 0.031$, test Kruskal-Wallis, corregido mediante test U Mann Whitney). La separación de grupos se puede completar con la utilización de lipoperoxidación en suero ($p = 0.000$, test Kruskal-Wallis) que permite diferenciar entre “muertes de causa naturales” frente a “muertes asfícticas por ahorcamiento” ($p < 0.0024$, test U Mann Whitney).

Prácticamente idénticos resultados se encontraron con el cálculo de la Lps –LpLpc a la hora de diferenciar “muerte de causa natural” entre el resto de grupos (asfixia por sumersión, asfixia por estrangulación y traumatismos) con mínimas variaciones de significación frente a los parámetros anteriores (desde 0.000 a la máxima 0.044). IM quedó excluido en este caso.

También se podría separar “otras causas de muerte natural” del resto escogiendo otras combinaciones.

En nuestro estudio la intensidad de la expresión ($P = 0.011$, test K-W) como el cálculo del producto de intensidad por extensión de PARP1 ($P = 0.021$, test K-W) pudo diferenciar estadísticamente entre “asfixias por ahorcadura” (baja expresión tisular en intensidad y extensión) vs. “asfixias por sumersión” (alta expresión en intensidad y extensión).

La combinación de ambos parámetros PARP1 y Lipoperoxidación nos ayudó a diferenciar de forma estadística significativa a 3 de los 5 causas de muerte estudiados. Para poder separar todos los grupos quedaría pendiente de separar “traumatismos frente a asfixias por sumersión”.

La búsqueda de nuevos parámetros para nuestro objetivo continúa. Se han empleado nuevas técnicas para ello, como la referida por González (2014), que utilizó técnicas de cTnThs (Troponina T ultrasensible) estudiando también su estabilidad después de la muerte, pero encontrando una correlación entre el intervalo *post mortem* y cTnThs en Lpc relacionándolo posiblemente con la autólisis. Esa correlación nosotros no la hemos encontrado al no ser las cTnT ni cTnI utilizadas en nuestro estudio de alta sensibilidad. Además Gonzales relacionó niveles elevados de cTnThs en Lpc con las causas de muertes cardiacas, traumáticas, asfícticas por ahorcamiento frente a las muertes naturales. También el mismo autor utilizó la PCR de moléculas diana (TNNI3, MYL3, MMP9, TGFB1 y VEGFA) encontrando que VEGFA corre paralelo a cTnThs.

Por un lado hay que buscar una rentabilidad entre el coste y la información obtenida por lo que hay que buscar nuevos marcadores que nos ayuden a nuestro fin y por otro lado seleccionar de aquellos ya existentes que nos puedan ser de mayor utilidad en función de lo que busquemos.

9. CONCLUSIONES

Conclusiones

1. Los fenómenos autolíticos no interfieren significativamente en las concentraciones de los marcadores bioquímicos analizados en el período *post mortem* utilizado.
2. La valoración morfológica aislada de las lesiones en corazones de cadáver no encuentra relación con los parámetros bioquímicos analizados ni ha permitido identificar la causa de la muerte en nuestra serie.
3. Los valores de CK-MB y de la isoforma cardíaca MBmb2 en suero pueden ayudar a diferenciar las muertes por asfixia por sumersión de la muerte a consecuencia de traumatismos.
4. La determinación de troponina I en líquido pericárdico y CK-MB en suero y líquido pericárdico han mostrado un rendimiento diagnóstico *post mortem* para diferenciar causas de muerte de origen cardíaco de otras causas de muerte, excepto para las de origen traumático.
5. El comportamiento de las isoformas enzimáticas MBmb1 y MBmb2 en líquido pericárdico es muy semejante para apoyar el diagnóstico diferenciar *post mortem* de la causa de muerte de origen cardíaco, separándola de otras causas de muerte, excepto en muertes de etiología traumática y asfixias por ahorcadura.
6. La determinación de troponinas T en suero, líquido pericárdico y en tejido cardíaco no ha mostrado un rendimiento diagnóstico *post mortem* suficiente para establecer el diagnóstico diferencial entre causas de muerte de origen cardíaco del resto de causas de muerte valoradas en este estudio.
7. La determinación de la peroxidación lipídica en suero, líquido pericárdico y tejido cardíaco facilita el diagnóstico diferencial *post mortem* entre causas de muerte natural del IM, accidentales (traumatismos, asfixias) o suicidas.

8. Encontramos mayores concentraciones de los diferentes marcadores en líquido pericárdico. La difusión de estos marcadores a este fluido es más precoz e intensa que al suero, por lo que unido a las características de producción, su función fisiológica y la situación de este fluido le convierte en el fluido de elección en el diagnóstico de necrosis miocárdica en la práctica forense.
9. La expresión inmunohistoquímica de troponinas T y Nogo-A en tejido cardíaco de cadáver valorada semicuantitativamente y mediante análisis de imagen no alcanza diferencias estadísticamente significativas para poder utilizarlas como técnica complementaria en el diagnóstico de causa de muerte de origen cardíaco.
10. Los niveles de expresión nuclear de PARP1 mediante inmunohistoquímica en tejido cardíaco pueden contribuir a identificar entre diferentes causas de muerte de origen asfíctico (diferencia asfixia mecánica por ahorcadura de asfixia por ahogamiento).
11. La investigación bioquímica en el cadáver siempre debe utilizarse como herramienta diagnóstica complementaria en la autopsia y debe ser contrastada e interpretada con el examen anatomopatológico.

12. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abd Elmageed ZY, Naura AS, Errami Y, Zerfaoui M. The poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs): new roles in intracellular transport. *Cell Signal.* 2012 Jan;24(1):1-8
- Adabag AS, Luepker RV, Roger VL, Gersh BJ. Sudden cardiac death: epidemiology and risk factors. *Nat Rev Cardiol.* 2010 Apr;7(4):216-225.
- Adabag AS, Peterson G, Apple FS, Titus J, King R, Luepker RV. Etiology of sudden death in the community: results of anatomical, metabolic, and genetic evaluation. *Am Heart J.* 2010 Jan;159(1):33-9.
- Aissaoui A1, Haj Salem N, Zaqout A, Boughattas M, Belhaj M, Mosrati MA, Chadly A. Cardiac troponin I and the post-mortem diagnosis of myocardial damage. *Ann Cardiol Angeiol (Paris).* 2013 Aug; 62(4):248-252.
- Aguiar RC, Takeyama K, He C, Kreinbrink K, Shipp MA. B-aggressive lymphoma family proteins have unique domains that modulate transcription and exhibit poly(ADP-ribose) polymerase activity. *J Biol Chem.* 2005 Oct;280(40):33756-33765.
- Allen JE, Goodman DB, Besarab A, Rasmussen H. Studies on the biochemical basis of oxygen toxicity. *Biochim Biophys Acta.* 1973 Oct;320(3):708-728.
- Álvarez-Gonzalez R, Watkins TA, Gill PK, Reed JL, Mendoza-Alvarez H. Regulatory mechanisms of poly(ADP-ribose) polymerase. *Mol Cell Biochem.* 1999 Mar;193(1-2):19-22.
- Amé JC, Rolli V, Schreiber V, Niedergang C, Apiou F, Decker P, Muller S, Höger T, Ménissier-de Murcia J, de Murcia G. PARP-2, A novel mammalian DNA damage-dependent poly(ADP-ribose) polymerase. *J Biol Chem* 1999;.274: 17860-17868
- Amé JC, Spenlehauer C, de Murcia G. The PARP superfamily. *Bioessays.* 2004 Aug;26(8):882-93
- Anversa P, Cheng W, Liu Y, Leri A, Redaelli G, Kajstura J. Apoptosis and myocardial infarction. *Basic Res Cardiol.* 1998; 93(Suppl 3):8-12.
- Apple F, Collinson PO, IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem.* 2012; 58:54-61
- Apple FS., Anderson P., Collinson P., Jesse RL., Kontos MC., Levitt MA., Miller EA., Murakmi MM. Clinical evaluation of the first medical whole blood, point-of-care testing device for detection of myocardial infarction. *Clin Chem,* 2000; 46: 1604-1609.

- Atwal JK, Pinkston-Gosse J, Syken J, Stawicki S, Wu Y, Shatz C, Tessier-Lavigne M. PirB is a functional receptor for myelin inhibitors of axonal regeneration. *Science* 2008; 322(5903): 967–970.
- Bai P, Virág L, Role of poly(ADP-ribose) polymerases in the regulation of inflammatory processes. *FEBS Letters* 2012 Sep;586 :3771–3777
- Barillari G, Albonici L, Franzese O, Modesti A, Liberati F, Barillari P, Ensoli B, Manzari V, Santeusano G. The basic residues of placenta growth factor type 2 retrieve sequestered angiogenic factors into a soluble form: implications for tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 1998 May; 152(5): 1161-1166.
- Basso C, Burke M, Fomes P, Gallagher PJ, De Gouveia RH, Sheppard M, Thiene G, Van Der Wal A. Association for European Cardiovascular Pathology 2010 Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. *Pathologica* 2010 Oct;102(5):391-404
- Bayés A, Elosuab R. Muerte súbita *Rev Esp Cardiol.* 2012 Nov;65(11):1039-1052.
- Berger NA, Sims JL, Catino DM, Berger SJ. Poly(ADP-ribose) polymerase mediates the suicide response to massive DNA damage: studies in normal and DNA-repair defective cells. *Princess Takamatsu Symp.* 1983;13:219-226
- Bhatia M, Kirkland JB, Meckling-Gill KA. Modulation of poly(ADP-ribose) polymerase during neutrophilic and monocytic differentiation of promyelocytic (NB4) and myelocytic (HL-60) leukaemia cells. *Biochem J.* 1995 May 15;308 (Pt 1):131-137
- Bhatnagar A. Contribution of ATP to oxidative stress-induced changes in action potential of isolated cardiac myocytes. *Am J Physiol.* 1997 April;272(4 Pt 2):H1598-1608.
- Bogaty P, Brecker SJ, White SE, Stevenson RN, el-Tamimi H, Balcon R, Maseri A., Comparison of coronary angiographic findings in acute and chronic first presentation of ischemic heart disease. *Circulation.* 1993 Jun;87(6):1938-1946.
- Bouchard VJ1, Rouleau M, Poirier GG. PARP-1, a determinant of cell survival in response to DNA damage. *Exp Hematol.* 2003 Jun;31(6):446-454.
- Bowes J, McDonald MC, Piper J, Thiemermann C Inhibitors of poly (ADP-ribose) synthetase protect rat cardiomyocytes against oxidant stress. *Cardiovasc Res.* 1999 Jan;41(1):126-134.
- Bowes J, Piper J, Thiemermann C Inhibitors of the activity of poly (ADP-ribose) synthetase reduce the cell death caused by hydrogen peroxide in human cardiac myoblasts. *Br J Pharmacol.* 1998a Aug;124(8):1760-1766.

- Bowes J, Ruetten H, Martorana PA, Stockhausen H, Thiemermann C Reduction of myocardial reperfusion injury by an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase in the pig. *Eur J Pharmacol.*1998b Oct 23;359(2-3):143-150.
- Braunwald E., Kloner R.A., The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction, *Circulation.*1982 Dec;66(6):1146-1149.
- Brawn K, Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases: threat and defense. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1980;492:9-18.
- Braunwald E, Antman EM, Beasley JW et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2000a Sep; 36(3): 970–1062.
- Braunwald E, Antman EM, Beasley JW et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (committee on the management of patients with unstable angina). *Circulation*2000b Sep 5;102(10):1193-1209.
- Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery.* 1983 Sep;94(3):407-411
- Bullard TA, Protack TL, Aguilar F, Bagwe S, Massey HT, Blaxall BC. Identification of Nogo as a novel indicator of heart failure. *Physiol Genomics.*2008 Jan 17;32(2):182-189.
- Bürkle A. Physiology and pathophysiology of poly(ADP-ribosyl)ation. *Bioessays.* 2001 Sep;23(9):795-806.
- Carden D.L., Granger D.N., Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury, *J. Pathol.* 2000 Feb;190(3):255-266.
- Castellá J, Medallo J, Marrón T. Medicolegal Consideration in Sudden Cardiac Death. *Rev Esp Cardiol.* 2013 Supl13: 30-39.
- Celik M., Aksoy A.N., Aksoy H., Aksoy Y., Halici Z., I Sildenafil. Reduces ischemia-reperfusion injury in rat ovary: biochemical and histopathological evaluation, *Gynecol. Obstet. Investig.*2014;78(3):162-167.
- Cesselli D, Jakoniuk I, Barlucchi L, Beltrami AP, Hintze TH, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P Oxidative stress-mediated cardiac cell death is a major determinant of ventricular dysfunction and failure in dog dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 2001 Aug 3;89(3):279-86.

- Chambon P, Weill JD, Mandel P. Nicotinamide mononucleotide activation of new DNA-dependent polyadenylic acid synthesizing nuclear enzyme. *Biochem Biophys Res Commun.* 1963 Apr ;2(11):39-43.
- .-Chiarugi A, Moskowitz MA. Cell biology. PARP-1--a perpetrator of apoptotic cell death? *Science.* 2002 Jul 12;297(5579):200-201.
- .-Chung I, Choudhury A, Lip GY. Platelet activation in acute, decompensated congestive heart failure. *Thromb Res* 2007;120(5):709-713.
- Cina SJ, Brown DK, Smialek JE, Collins KA. A rapid post mortem cardiac troponin T assay: laboratory evidence of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol.* 2001 Jun;22(2):173-176.
- Cina SJ, Brown DK, Smialek JE, Collins KA. A rapid post mortem cardiac troponin T assay: laboratory evidence of sudden cardiac death. *J Forensic Med Pathol.* 2001 Jun;22(2):173-176.
- Coe JI. Post mortem chemistry update. Emphasis on forensic application. *Am J Forensic Med Pathol.* 1993 Jun;14(2):91-117.
- Cohen-Armon M. PARP-1 activation in the ERK signaling pathway. *Trends Pharmacol Sci.* 2007 Nov;28(11):556-560.
- Concheiro L, Suarez JM. Muerte súbita en el adulto y muerte súbita infantil. En; Villanueva E (ed) Gilbert Calabuig. *Medicina Legal y Toxicología 6th edn. Masson, Barcelona, 2004. pp. 225-241.*
- Conde C, Mark M, Oliver FJ, Huber A, de Murcia G, Ménissier-de Murcia J. Loss of poly(ADP-ribose) polymerase-1 causes increased tumour latency in p53-deficient mice. *EMBO J.* 2001 Jul;20(13):3535-3543.
- Craveiro LM, Hakkoum D, Weinmann O, Montani L, Stoppini L, Schwab ME. Neutralization of the membrane protein Nogo-A enhances growth and reactive sprouting in established organotypic hippocampal slice cultures. *Eur J Neurosci.* 2008 Nov;28(9):1808-1824.
- Cregan SP, Dawson VL, Slack RS. Role of AIF in caspase-dependent and caspase-independent cell death. *Oncogene.* 2004 Apr;23(16):2785-2796.
- D'Amours D, Desnoyers S, D'Silva I, Poirier GG. Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. *Biochem J.* 1999 Sep ;342 (Pt 2):249-268.
- Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell.* 2004 Jan;116(2):205-219.

- Dantzer F, Amé JC, Schreiber V, Nakamura J, Ménissier-de Murcia J, de Murcia G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation during DNA damage and repair. *Methods Enzymol.* 2006;409:493-510.
- Davidovic L, Vodenicharov M, Affar EB, Poirier GG. Importance of poly(ADP-ribose) glycohydrolase in the control of poly(ADP-ribose) metabolism. *Exp Cell Res.* 2001 Aug 1;268(1):7-13.
- De Asmundi C., Brugada P. Epidemiology of sudden cardiac death. *Rev. Esp. de Cardiología.* 2013 suplemento 13: 2-6.
- De Boer RA, Voors AA, Muntendam P, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ "Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression". *European Journal of Heart Failure.* 2009 Sep; 11 (9): 811–817.
- De la Grandmaison GL. Is there progress in the autopsy diagnosis of sudden unexpected death in adult? *Forensic Sci int.* 2006 Jan;156(2-3):138-144.
- De Lemos JA, Drazner MH, Omland T, Ayers CR, Khera A, Rohatgi A, Hashim I, Berry JD, Das SR, Morrow DA, McGuire DK. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA.* 2010 Dec ;304(22):2503-2512.
- de Murcia G, Ménissier de Murcia J. Poly(ADP-ribose) polymerase: a molecular nick-sensor. *Trends Biochem Sci.* 1994a Apr;(4):172-176.
- de Murcia G, Schreiber V, Molinete M, Saulier B, Poch O, Masson M, Niedergang C, Ménissier de Murcia J. Structure and function of poly(ADP-ribose) polymerase. *Mol Cell Biochem.* 1994 b Sep;138(1-2):15-24.
- Decker P, Muller S. Modulating poly (ADP-ribose) polymerase activity: potential for the prevention and therapy of pathogenic situations involving DNA damage and oxidative stress. *Curr Pharm Biotechnol.* 2002 Sep;3(3):275-283.
- Deng K, Gao Y, Cao Z, Graziani EI, Wood A, Doherty P, Walsh FS. Overcoming amino-Nogo-induced inhibition of cell spreading and neurite outgrowth by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-type tumor promoters. *J Biol Chem.* 2010 Feb;285(9):6425-6433.
- Dergham P, Ellezam B, Essagian C, Avedissian H, Lubell WD, McKerracher L. Rho signaling pathway targeted to promote spinal cord repair. *J Neurosci.* 2002 Aug; 22(15):6570-6577.
- Devarajan P, Barasch J. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest.* 2005 Mar;115(3):610-621.

- . Docherty JC, Kuzio B, Silvester JA, Bowes J, Thiemermann C An inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase activity reduces contractile dysfunction and preserves high energy phosphate levels during reperfusion of the ischaemic rat heart. *Br J Pharmacol.* 1999 Jul; 127(6): 1518-1524.
- . Dodd DA, Niederoest B, Bloechlinger S, Dupuis L, Loeffler JP, Schwab ME. Nogo-A, -B, and Care found on the cell surface and interact together in many different cell types. *J Biol Chem* 2005 Apr; 280(13): 12494-12502.
- . Dormandy TL An approach to free radicals. *Lancet.* 1983 Oct; 2(8357): 1010-1014.
- . Doménech P., Carbonell L., Pérez Cárceles MD., Falcón M., Luna A., Osuna E. Application of postmortem lipid peroxidation in heart tissue to the diagnosis of myocardial damage. *Int J Legal Med* 2004; 118: 19-23.
- . Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N and Giaid A. Congestive heart failure and expression of myocardial I urotensin II. *Lancet* 2002; 8(359): 1990-1997.
- . Downey JM. Free radicals and their involvement during long-term myocardial ischemia and reperfusion, *Annu. Rev. Physiol.* Mar 1990; 52: 487-504.
- . Edston E, van Hage-Hamsten M, Johansson SG. Tryptase--at last a useful diagnostic marker for anaphylactic death. *Allergy.* 1996 Jun; 51(6): 443-445.
- . Enoksson S, Hagström-Toft E, Nordahl J, Hultenby K, Pettersson N, Isaksson B, Permert J, Wibom R, Holm C, Bolinder J, Arner P. Marked reutilization of free fatty acids during activated lipolysis in human skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab.* Jun 2005; 90(2): 1189-1195.
- . Evgenov OV, Liaudet L. Role of nitrosative stress and activation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in cardiovascular failure associated with septic and hemorrhagic shock. *Curr Vasc Pharmacol* 2005 Jul; 3(3): 293-299.
- . Feng Q, Lu X, Jones DL, Shen J, Arnold JM Increased inducible nitric oxide synthase expression contributes to myocardial dysfunction and higher mortality after myocardial infarction in mice. *Circulation* 2001 Aug; 104(6): 700-704.
- . Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol.* 2003 Feb; 138(4): 532-543.
- . Ferdinandy P., Schulz R., Baxter G.F., Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning, *Pharmacol. Rev.* 2007 Dec; 59(4): 418-458.

- Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, De Giuli F, Visioli O. Occurrence of oxidative stress during myocardial reperfusion. *Mol Cell Biochem.*1992 Apr;111(1-2):61-69.
- Fiorillo C, Pace S, Ponziani V, Nediani C, Perna AM, Liguori P, Cecchi C, Nassi N, Donzelli GP, Formigli L, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase activation and cell injury in the course of rat heart heterotopic transplantation. *Free Radic Res.*2002 Jan;36(1):79-87.
- Fiorillo C, Ponziani V, Giannini L, Cecchi C, Celli A, Nediani C, Perna AM, Liguori P, Nassi N, Formigli L, et al. Beneficial effects of poly (ADP-ribose) polymerase inhibition against the reperfusion injury in heart transplantation. *Free Radic Res.*2003 Mar;37(3):331-339.
- Flanagan RJ, Connally G, Evans JM. Analytical toxicology: guidelines for sample collection post mortem. *Toxicol Rev.* 2005a; 24(1):63-71.
- Flanagan RJ, Connally G. Interpretation of analytical toxicology results in life and at post mortem. *Toxicol Rev.* 2005b;24(1):51-62.
- Fournier AE, GrandPre T, Strittmatter SM. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. *Nature* 2001;409: 341–346.
- Frangogiannis NG. Pathophysiology of Myocardial Infarction. *Compr Physiol.* 2015 Sep;5(4):1841-1875.
- French K, White H. Clinical implications of the new definition of myocardial infarction *Heart* 2004 Jan;90:99-106.
- Gagne JP, Hendzel MJ, Droit A, Poirier GG. The expanding role of poly(ADP-ribose) metabolism: Current challenges and new perspectives. *Curr Opin Cell Biol.* 2006 Apr;18(2):145-151.
- Gallagher PJ. The pathological investigation of sudden cardiac death. *Curr Diagn Path* 2007; 13:366-374.
- Gerhardt TW., Ljungdahl L. Troponin T. A sensitive and specific prognostic marker of myocardial damage. *Clin Chem Acta*, 1998; 272: 47-57.
- Gilad E, Zingarelli B, Salzman AL, Szabo C. Protection by inhibition of poly (ADP-ribose) synthetase against oxidant injury in cardiac myoblasts In vitro. *J Mol Cell Cardiol* 1997 Sep;29:2585-2597.
- Gisbert, J.A., Verdu F.A., Autopsia médico-legal. In *Medicina Legal y Toxicología. Gisbert Calabuig JA ed (Barcelona : Masson) 1989 pp. 119-243.*
- Gisbert, J.A., Villanueva E., Procesos destructores del cadáver. In *Medicina Legal y Toxicología. Gisbert Calabuig JA ed (Barcelona : Masson) 1989 pp. 172-185.*

- González-Herrera L1, Valenzuela A, Marchal JA, Lorente JA, Villanueva E. Studies on RNA integrity and gene expression in human myocardial tissue, pericardial fluid and blood, and its postmortem stability. *Forensic Sci Int.* 2013 Oct 10;232(1-3):218-228.
- . Gottlieb RA, Burlison KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest.* 1994 Oct ; 94:1621–1628.
- . Gould L, Zahir M, Calder B, Lyon AF. Nonobstructive primary myocardial disease. Hemodynamic studies in fourteen cases. *Am J Cardiol.* 1968 Oct;22(4):523-531.
- . Gramolini AO, Kislinger T, Alikhani-Koopaei R, Fong V, Thompson NJ, Isserlin R, Sharma P, Oudit GY, Trivieri MG, Fagan A, Kannan A, Higgins DG, Huedig H, Hess G, Arab S, Seidman JG, Seidman CE, Frey B, Perry M, Backx PH, Liu PP, MacLennan DH, Emili A. Comparative proteomics profiling of a phospholamban mutant mouse model of dilated cardiomyopathy reveals progressive intracellular stress responses. *Mol Cell Proteomics.* 2008 Mar; 7:519–533.
- . GrandPre T, Nakamura F, Vartanian T, Strittmatter SM. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein. *Nature* 2000 Jan.;403: 439–444,
- . Granger D.N, Rodrigues S.F., Yildirim A., Senchenkova E.Y., Microvascular responses to cardiovascular risk factors, *Microcirculation* 2010 Apr;17:192–205.
- . Granger D.N., Rutili G., McCord J.M., Superoxide radicals in feline intestinal ischemia, *Gastroenterology* 1981 Jul;81:22–29.
- . Granger DN, Kvietys Peter R . Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biology* 2015 Dec;6:524–551.
- . Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: Role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res.* 2000 Mar;86(5):494-501.
- . Guarnieri C., Flamigni F., Caldarera C.M., Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart, *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1980 Aug;12 :797–808.
- . Ha HC, Hester LD, Snyder SH. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 dependence of stress-induced transcription factors and associated gene expression in glia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 Mar;99:3270-3275.
- . Haglund U, Lundgren O. Intestinal ischemia and shock factors. *Fed Proc.* 1978 Nov;37(13):2729-2733.
- . Hakem R. DNA-damage repair; the good, the bad, and the ugly. *EMBO J.* 2008 Feb ;27(4):589-605.

- Hakme, A., Wong, H.K., Dantzer, F. & Schreiber, V. The expanding field of poly(ADP-ribosylation) reactions. 'Protein Modifications: Beyond the Usual Suspects' Review Series. *EMBO* 2008; 9:1094-1100.
- Halmosi R, Berente Z, Osz E, Toth K, Literati-Nagy P, Sumegi B Effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on the ischemia-reperfusion-induced oxidative cell damage and mitochondrial metabolism in Langendorff heart perfusion system. *Molec Pharmacol*. 2001 Jun; 59:1497-1505.
- Harrison KD, Miao RQ, Fernandez-Hernando C, Suarez Y, Davalos A, Sessa WC. Nogo-B receptor stabilizes Niemann-Pick type C2 protein and regulates intracellular cholesterol trafficking. *Cell Metab* 2009 Sep; 10: 208–218,
- Harrison KD, Park EJ, Gao N, Kuo A, Rush JS, Waechter CJ, Lehrman MA, Sessa WC. Nogo-B receptor is necessary for cellular dolichol biosynthesis and protein glycosylation. *EMBO J* 2011 May; 30: 2490–2500.
- Hassa PO, Haenni SS, Elser M, Hottiger MO. Nuclear ADP-ribosylation reactions in mammalian cells: where are we today and where are we going? *Microbiol Mol Biol Rev*. 2006 Sep; 70(3):789-829.
- Hassa PO, Hottiger MO. The diverse biological roles of mammalian PARPs, a small but powerful family of poly-ADP-ribose polymerases. *Front Biosci* 2008 Jan; 13: 3046–3082.
- Hayashi Y, Sawa Y, Ohtake S, Fukuyama N, Nakazawa H, Matsuda H Peroxynitrite formation from human myocardium after ischemia-reperfusion during open heart operation. *Ann Thor Surg* 2001 Aug; 72:571-576.
- Hearse DJ, Humphrey SM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release, *J. Mol. Cell. Cardiol*. 1973 Aug; 5: 395-407.
- Hearse DJ, Humphrey SM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release, *J. Mol. Cell. Cardiol*. 1973 Aug; 5: 395-407.
- Heeschem C., Deu A., Langrenbrinck L., Goldman U., Hamm CW. Analytical and diagnostic performance of troponin assays in patients suspicious for acute coronary syndromes. *Clin Biochem*, 2000; 33: 359-368.
- Helgadottir A, Manolescu A, Helgason A, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Gudbjartsson DF, et al. A variant of the gene encoding leukotriene A4 hydrolase confers ethnicity-specific risk of myocardial infarction. *Nat Genet* 2006 Aug; 38(1): 68-74.
- Hillis GS., Fox KAA. Cardiac troponins in chest pain. Can help in risk stratification. *Br Med J*, 1999; 319: 1451-1452.

- Hirvonen J, Huttunen P. Post mortem changes in serum noradrenaline and adrenaline concentrations in rabbit and human cadavers. *Int J Legal Med.* 1996;109(3):143-146.
- Hofstra L, Liem IH, Dumont EA, Boersma HH, van Heerde WL, Doevendans PA, et al. Visualisation of cell death in vivo in patients with acute myocardial infarction. *Lancet.* 2000 Jul; 356:209–212.
- Horton JK, Watson M, Stefanick DF, Shaughnessy DT, Taylor JA, Wilson SH. XRCC1 and DNA polymerase beta in cellular protection against cytotoxic DNA single-strand breaks. *Cell Res.* 2008 Jan;18(1):48-63.
- Hottiger MO, Boothby M, Koch-Nolte F, Lüscher B, Martin NM, Plummer R, Wang ZQ, Ziegler M. Progress in the function and regulation of ADP-Ribosylation. *Sci Signal.* 2011 May 24;4(174):mr5.
- Hottiger MO, Hassa PO, Lüscher B, Schüler H, Koch-Nolte F. Toward a unified nomenclature for mammalian ADP-ribosyltransferases. *Trends Biochem Sci.* 2010 Apr;35(4):208-219.
- Hougen HP, Valenzuela A, Lachica E, Villanueva E. Sudden cardiac death: a comparative study of morphological, histochemical and biochemical methods. *Forensic Sci Int.* 1992 Jan;52(2):161-169.
- Huletsky A, de Murcia G, Muller S, Hengartner M, Ménard L, Lamarre D, Poirier GG. The effect of poly(ADP-ribosylation) on native and H1-depleted chromatin. A role of poly(ADP-ribosylation) on core nucleosome structure. *J Biol Chem.* 1989 May;264(15):8878-8886.
- Jaffe AS. Chasing troponin: how low can you go if you can see the rise? *J Am Coll Cardiol.* 2006 Nov;48:1763–1764.
- Jaffe AS., Ravkilde J., Roberts R., Naslund U., Apple FS., Galvani M., Katus H. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation,* 2000; 102: 1216-1220.
- Jagtap P, Szabo C. Poly(ADP-ribose) polymerase and the therapeutic effects of its inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2005 May; 4:421-440.
- James TN. Complex causes of fatal myocardial infarction. *Circulation.* 1997 Sep ;96 (5):1696-1700.
- Jneid H, Alam M, Virani SS, Bozkurt B. Redefining myocardial infarction: what is new in the ESC/ACCF/AHA/WHF Third Universal Definition of myocardial infarction?. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2013 Jul Sep;9(3):169-172.
- Jung JE, Kim G, Chen H, Maier CM, Narasimhan P, Song YS, Niizuma K, Katsu M, Okami N, Yoshioka H, Sakata H, Goeders CE, Chan PH. Reperfusion and neurovascular dysfunction in stroke: from basic mechanisms to potential strategies for neuroprotection, *Mol. Neurobiol.* 2010 Jun; 41, 172–179.

- Kanaar R, Wyman C. DNA repair by the MRN complex: break it to make it. *Cell*. 2008 Oct 3;135(1):14-16.
- Kanai M, Tong WM, Sugihara E, Wang ZQ, Fukasawa K, Miwa M. Involvement of poly(ADP-Ribose) polymerase 1 and poly(ADP-Ribosyl)ation in regulation of centrosome function. *Mol Cell Biol*. 2003 Apr;23(7):2451-2462.
- Kaufmann, S.H., Desnoyers, S., Ottaviano, Y., Davidson, N.E. & Poirier, G.G. Specific proteolytic cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: a nearly marker of chemotherapy-induced apoptosis. *Cancer Res* 1993;53: 3976-3985.
- Kavsak PA, Xu L, Yusuf S, McQueen MJ. High-sensitivity cardiac troponin I measurement for risk stratification in a stable high-risk population. *Clin Chem*. 2011 Aug;57:1146–1153.
- Khan SQ, Kelly D, Quinn P, Davies JE and Ng LL. Myotrophin is a more powerful predictor of major adverse cardiac events following acute coronary syndrome than N-terminal pro-B-type natriuretic peptide. *Clin Sci (Lond)* 2007 Feb;; 112(4): 251-256.
- Khan SQ, Loke I, O'Brien RJ, Squire IB and Davies JE. Plasma urotensin in human systolic heart failure. *Circulation* 2002 Dec; 106: 2877-2880.
- Katoh M, Katoh M. Identification and characterization of human TIPARP gene within the CCNL amplicon at human chromosome 3q25.31. *Int J Oncol*. 2003 Aug;23(2):541-547.
- Kempf A, Schwab ME. Nogo-A represses anatomical and synaptic plasticity in the central nervous system. *Physiology (Bethesda)*. 2013 May;28(3):151-163.
- Kim H, Melen K, Osterberg M, von Heijne G. A global topology map of the *Saccharomyces cerevisiae* membrane proteome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 Jul;103: 11142–11147.
- Kim JE, Li S, GrandPre T, Qiu D, Strittmatter SM. Axon regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B. *Neuron* 2003 Apr;38: 187–199.
- Kim MS, Kim BJ, Woo HN, Kim KW, Kim KB, Kim IK, Jung YK. Cadmium induces caspase-mediated cell death: suppression by Bcl-2. *Toxicology*. 2000 Apr;145(1):27-37.
- Kim MY, Zhang T, Kraus WL. Poly(ADP-ribosyl)ation by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal. *Genes Dev* 2005 Sep; 19: 1951–1967.
- Kirkland JB. Poly ADP-ribose polymerase-1 and health. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010 May;235(5):561-568.
- Kirkland JB. Lipid peroxidation, protein thiol oxidation and DNA damage hydrogen peroxide-induced injury to endothelial cells: role of activation of poly (ADP-ribose) polymerase. 1991 May;1092(3):319-325.

- Kleinfeld AM, Kleinfeld KJ and Adams JE. Serum levels of unbound free fatty acids reveal high sensitivity for early detection of acute myocardial infarction in patient samples from the TIMI II trial. *J Am Coll Cardiol* 2002;39: 312.
- Kloner R.A., Ganote C.E, Whalen D.A. Jr., Jennings R.B., Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. II. Fine structure during the first few minutes of reflow, *Am. J. Pathol.* 1974 Mar;74: 399–422.
- Knigh B, Chest an abdominal injuric.In Forensic Pathology. Edward Arnold ed. London 1996; pp. 217-230.
- Kourtis N, Tavernarakis N. Cellular stress response pathways and ageing: Intricate molecular relationships..*EMBO J* 2011May;30: 2520–2531.
- Kraus WL. Transcriptional control by PARP-1: Chromatin modulation, enhancer-binding, coregulation, and insulation.Curr Opin Cell Biol 2008Jun; 20: 294–302.
- Kraus WL, Lis JT. PARP goes transcription. *Cell.* 2003 Jun 13;113(6):677-683.
- Kribben A, Wieder ED, Wetzels JF, Yu L, Gengaro PE, Burke TJ, Schrier RW. Evidence for role of cytosolic free calcium in hypoxia-induced proximal tubule injury. *J Clin Invest.* 1994 May;93(5):1922-1929.
- Krishnakumar R, Kraus WL. The PARP side of the nucleus: Molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets. *Mol Cell* 2010Jul;39: 8–24.
- Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev.* 2007Jan; 87:99–163.
- Kun E, Kirsten E, Ordahl CP. Coenzymatic activity of randomly broken or intact double-stranded DNAs in auto and histone H1 trans-poly(ADP-ribosylation), catalyzed by poly(ADP-ribose) polymerase (PARP I). *J Biol Chem.* 2002 Oct 18;277(42):39066-39069.
- Lachica E, Villanueva E, Luna A. Comparison of different techniques for the post mortem diagnosis of myocardial infarction.*Forensic Sci Int.* 1988 Jul-Aug;38(1-2):21-26.
- Lazebnik YA, Kaufmann SH, Desnoyers S, Poirier GG, Earnshaw WC. Cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase by a proteinase with properties like ICE.*Nature.* 1994 Sep 22;371(6495):346-347.
- Lee Y, Gustafsson AB. Role of apoptosis in cardiovascular disease.*Apoptosis.*2009Apr; 14:536–548.
- Levrant S, Vannay-Bouchiche C, Pesse B, Pacher P, Feihl F,Waerber B, Liaudet L. Peroxynitrite is a major trigger of cardiomyocyte apoptosis in vitro and in vivo. *Free Rad Biol Med.* 2006Sep; 41:886-895.

-
- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med.* 1990 May ;322(22):1561-1566.
 - Levy D. Membrane proteins which exhibit multiple topological orientations. *Essays Biochem* 1996.31: 49–60.
 - .-Li J, Zhao SP, Peng DQ and Zhou HN. Changes and relations of soluble plasma CD40L and matrix metalloproteinase-9 levels in patients with coronary heart disease. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.*2004Oct;;29(5): 517-520.
 - Liaudet L, Yang Z, Al-Affar EB, Szabo C Myocardial ischemic preconditioning in rodents is dependent on poly (ADP-ribose) synthetase.. *Mol Med* 2001Jun;7:406-417.
 - Liberthson RR. Sudden death from cardiac causes in children and young adults. *N Engl J Med.* 1996 Apr;334(16):1039-44.
 - Long X, Boluyt MO, Hipolito ML, Lundberg MS, Zheng JS, O'Neill L, Cirielli C, Lakatta EG, Crow MT. p53 and the hypoxia-induced apoptosis of cultured neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest.* 1997Jun;99:2635–2643.
 - Lopera G, Huikuri HV, Makikallio TH, Castellanos A, Myerburg RJ. Ischemic sudden death: critical analysis of risk markers. Part VIII]. *Rev Esp Cardiol.* 2000 Apr;53(4):568-78.
 - Loseva O, Jemth AS, Bryant HE, Schüler H, Lehtiö L, Karlberg T, Helleday. PARP-3 is a mono-ADP-ribosylase that activates PARP-1 in the absence of DNA. *J Biol Chem.* 2010; 285, 8054-8060.
 - Lowery LA, Van Vactor D. The trip of the tip: understanding the growth cone machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009. 10: 332–343,.
 - Lucas Dt, Szweda Li. Cardiac reperfusion injury: aging, lipid peroxidation, and mitochondrial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:510-514.
 - Luna A, Carmona A, Villanueva E. The post mortem determination of CK isozymes in the pericardial fluid in various causes of death. *Forensic Sci Int.* 1983 Jul;22(1):23-30.
 - Luna A, Comportamiento del líquido pericardico en función de las causas de muerte y el tiempo probable de agonía. *Universidad de Granada. Type: Thesis/ Dissertation.*1979.
 - Luna A., Villanueva E. Valeur du liquide pericardique dans le diagnostique de la mort subite et du temps probable d'agonie. *J Med Leg Droit Medical,* 1982 a; 25: 373-384.
 - Luna A, Villanueva E, Castellano M, Jimenez G The determination of Ck, LDH and its isoenzymes in pericardial fluid and its application to the post-mortem diagnosis of myocardial infarction. *Forensic Sci Int.* 1982b Jan-Feb;19(1):85-91.

- Lund J, Qin QP, Ilva T, Pettersson K, Voipio-Pulkki LM, Porela P, Pulkki K.. Circulating pregnancy-associated plasma protein A predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003Oct; 108(16): 1924-1926.
- Luo X, Kraus WL. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. *Genes Dev.* 2012 Mar;26(5):417-432.
- Marrugat J, Elosua R, Gil M. Epidemiology of sudden cardiac death in Spain. *RevEsp Cardiol.* 1999 Sep;52(9):717-725.
- Martínez Díaz. Rodríguez-Morlensín F., M, Pérez-Cárceles M.D., Noguera J., Luna A and Osuna E., Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the post mortem diagnosis of myocardial damage. *Histol Histopathol* 2005 Apr; 20: 475-481.
- Matsumura G, Herp A, Pigman W. Depolymerization of hyaluronic acid by autoxidants and radiations. *Radiat Res.* 1966 Aug;28(4):735-752.
- Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol.* 1997 Jan 31;58(2):95-117.
- Mazon A, Menissier-de Murcia J, Molinete M, Simonin F, Gradwohl G, Poirier G, de Murcia G. Poly(ADP-ribose) polymerase: a novel finger protein. *Nucleic Acids Res.* 1989 Jun;17(12):4689-4698.
- McCord J.M., Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, *N Engl. J. Med.* 1985Jan; 312, 159-163.
- Martinez-Diaz F., Rodriguez Morlensin M., Pérez-Cárceles M.D., Noguera J., Luna A., Osuna E.. Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the postmortem diagnosis of myocardial damage. *Histology and Histopathology* 2005; 20: 475-481.
- Menegazzi M, Gerosa F, Tommasi M, Uchida K, Miwa M, Sugimura T, Suzuki H. Induction of poly(ADP-ribose) polymerase gene expression in lectin-stimulated human T lymphocytes is dependent on protein synthesis *Biochem Biophys Res Commun.* 1988 Oct;156(2):995-999.
- Ménissier-de Murcia J, Molinete M, Gradwohl G, Simonin F, de Murcia G. Zinc-binding domain of poly(ADP-ribose) polymerase participates in the recognition of single strand breaks on DNA. *J Mol Biol.* 1989 Nov;210(1):229-233.
- Miao RQ, Gao Y, Harrison KD, Prendergast J, Acevedo LM, Yu J, Hu F, Strittmatter SM, Sessa WC. Identification of a receptor necessary for Nogo-B stimulated chemotaxis and morphogenesis of endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006Jul; 103:10997-11002,

- Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int.* 2004 Aug;66(2):496-499.
- Miwa M, Masutani M. PolyADP-ribosylation and cancer. *Cancer Sci.* 2007 Oct;98(10):1528-1535.
- Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int.* 2004 Aug;66(2):496-499.
- Morentin B, Audicana C. Rev Esp Population-based study of out-of-hospital sudden cardiovascular death: incidence and causes of death in middle-aged adults. *Cardiol.* 2011 Jan;64(1):28-34.
- Morentin-Campillo B, Suarez-Mier MP, Aguilera-Tapia B Autopsia cardiaca en patología forense. *Rev Esp Med Legal* 2013; 39: 106-111.
- Morrow D., Lemos J., Rifai N. Troponin I predicts early need for revascularization in acute coronary syndromes: a TIMI IIB sub-study (Abstract). *Circulation*, 1999; 100: 771-775.
- Muñoz M., García de Gadiana L., Guillén E., Rodríguez O., Galán A., Oliver P., Valcárcel G., Larrucea M., Guevara P., Navarro X.. Recomendaciones para el uso de marcadores bioquímicos de necrosis miocárdica ante la sospecha de síndrome coronario agudo. Recomendación (2014). *Documentos de la SEQC - 2015 april*;4:68-81.
- Murakami MM, Doyle PJ and Quist HE. Risk assessment in end stage patients using cardiac troponin T and I, proBNP, and hsCRP measurements. *Clin Chem* 2003; 49: A66.
- Nash M, Pribiag H, Fournier AE, Jacobson C. Central nervous system regeneration inhibitor and their intracellular substrates. *Mol Neurobiol* 2009 Dec; 40: 224-235.
- Nauta RJ, Tsimoyiannis E, Uribe M, Walsh DB, Miller D, Butterfield A. The role of calcium ions and calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion-induced liver injury. *Ann Surg.* 1991 Feb;213(2):137-142.
- Navarrete M Demostración post-mortem del infarto de miocardio reciente. *Publicaciones de la Universidad de Sevilla* 1976.
- Nessler J, Nessler B, Kitliński M, Gackowski A, Piwowarska W and Stępniewski M. Concentration of BNP, endothelin 1, pro-inflammatory cytokines (TNF-alpha, IL-6) and exercise capacity in patients with heart failure treated with carvedilol. *Kardiol Pol* 2008 Feb; 66(2): 144-151.
- Newby LK, Jesse RL, Babb JD, Christenson RH, De Fer TM, Diamond GA, et al. ACCF 2012 Expert Consensus Document on Practical Clinical Considerations in the Interpretation of Troponin Elevations. *J Am Coll Cardiol.* 2012 Dec;60(23):2427-2463.

- Ng LL, Loke IW, O'Brien RJ, Squire IB and Davies JE. Plasma urocortin in human systolic heart failure. *ClinSci (Lond)* 2004Apr; 106(4): 383-388.
- Ng LL, O'Brien RJ, Demme B and Jennings S. Non-competitive immunochemiluminometric assay for cardiotrophin-1 detects elevated plasma levels in human heart failure. *Clin Sci (Lond)* 2002Apr; 102: 411-416.
- Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones SP. O-GlcNAc signaling attenuates ER stress-induced cardiomyocyte death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009Nov; 297:1711–1719.
- Niederost B, Oertle T, Fritsche J, McKinney RA, Bandtlow CE. Nogo-A and myelin-associated glycoprotein mediate neurite growth inhibition by antagonistic regulation of RhoA and Rac1. *J Neurosci* 2002Dec;22: 10368–10376.
- Nilsson S, Scheike M, Engblom D, Karlsson LG, Mölsted S, Akerlind I, Ortoft K, Nylander E. Chest pain and ischaemic heart disease in primary care. *Br J Gen Pract* 2003May; 53(490): 378–382.
- Nishida H, Horio T, Suzuki Y, Iwashima Y, Kamide K, Kangawa K, et al. Plasma adrenomedullin as an independent predictor of future cardiovascular events in high-risk patients: Comparison with C-reactive protein and adiponectin. *Peptides* 2008Apr;; 29(4): 599-605.
- Nishizaki M, Arita M, Sakurada H, Suzuki M, Ashikaga T, Yamawake N, Numano J, Hiraoka M. Induction of polymorphic ventricular tachycardia by programmed ventricular stimulation in vasospastic angina pectoris. *Am J Cardiol.* 1996 Feb;77(5):355-60.
- Oei SL, Shi Y. Poly(ADP-ribosylation) of transcription factor Yin Yang 1 under conditions of DNA damage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Jul ;285(1):27-31.
- Oertle T, Merkler D, Schwab ME. Do cancer cells die because of Nogo-B? *Oncogene* 2003cMar. 22: 1390– 1399.
- Oertle T, Schwab ME. Nogo and its paRTNers. *Trends Cell Biol* 2003aApr;.13(4): 187–194.
- Oertle T, van der Haar ME, Bandtlow CE, Robeva A, Burfeind P, Buss A, Huber AB, Simonen M, Schnell L, Brosamle C, Kaupmann K, Vallon R, Schwab ME. Nogo-A inhibits neurite outgrowth and cell spreading with three discrete regions. *J Neurosci:* 2003bJul.; 23(13): 5393–5406.
- Ogata N, Ueda K, Hayaishi O. Synthesis of [ribose (NMN)-14C]nicotinamide adenine dinucleotide from D-[14C]glucose. *Anal Biochem.* 1981 Jul 15;115(1):58-60.

- Oka S, Kato J, Moss J. Identification and characterization of a mammalian 39-kDa poly(ADP-ribose) glycohydrolase. *J Biol Chem.* 2006 Jan 13;281(2):705-713.
- Oliva A, Brugada R, D'Aloja E, Boschi I, Partemi S, Brugada J, Pascali VL State of the art in forensic investigation of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol.* 2011Mar; 32(1):1-16.
- Oliver FJ, Menissier-de Murcia J, Nacci C, Decker P, Andriantsitohaina R, Muller S, de la Rubia G, Stoclet JC, de Murcia G. Resistance to endotoxic shock as a consequence of defective NF-kappaB activation in poly (ADP-ribose) polymerase-1 deficient mice. *EMBO J.* 1999Aug; 18(16):4446-4454.
- Oliver AW, Amé JC, Roe SM, Good V, de Murcia G, Pearl LH. Crystal structure of the catalytic fragment of murine poly(ADP-ribose) polymerase-2. *Nucleic Acids Res.* 200;32,: 456-464.
- Olivetti G, Quaini F, Sala R, Lagrasta C, Corradi D, Bonacina E, et al. Acute myocardial infarction in humans is associated with activation of programmed myocyte cell death in the surviving portion of the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1996Sep; 28(9):2005-2016.
- Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB, troponin I, and troponin T with cardiac pathology. *Clin Chem.* 2000 Mar;46(3):338-44.
- Osborne N.N., Casson R.J., Wood J.P., Chidlow G., Graham M., Melena J., Retinal ischemia: mechanisms of damage and potential therapeutic strategies, *Prog. Retin. Eye Res.* 2004Jan; 23(1): 91-147.
- Osuna E, Pérez-Cárceles MD, Alvarez MV, Noguera J, Luna A. Cardiac troponin I (cTn I) and the post mortem diagnosis of myocardial infarction. *Int J Legal Med.* 1998a;111(4):173-176.
- Osuna E, Pérez-Cárceles MD, García-Lorente A, Sánchez-Hanke M, Vieira DN, Carvalho L, Püschel K, Luna A. Lipid peroxidation in lung tissue after chest trauma and correlation with the duration of the post-trauma survival period. *Int J Legal Med.* 1998b111(5):256-260.
- Osuna E., Pérez-Cárceles M.D., Vieira D.N, Luna A.. Distribution of biochemical markers in biological fluids. Application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Am J Forensic Med Pathol* 1998c; 19: 123- 128.
- Osuna E, Vivero G, Conejero J, Abenza JM, Martínez P, Luna A, Pérez-Cárceles MD. Post mortem vitreous humor beta-hydroxybutyrate: its utility for the post mortem interpretation of diabetes mellitus. *Forensic Sci Int.* 2005 Oct;153(2-3):189-195.
- Osuna E, Pérez-Cárceles MD, Moreno M, Bedate A, Conejero J, Abenza JM, Martínez P, Luna A. Vitreous humor carbohydrate-deficient transferrin concentrations

in the post mortem diagnosis of alcoholism. *Forensic Sci Int.* 2000 Feb;;108(3):205-213.

-. Ozmen D, Boydak B, Mutaf I, Zoghi M, Kumanlioglu K, Güner I, Bayindir O. Jpn The state of lipid peroxidation and antioxidants following thrombolytic therapy with rt-PA and streptokinase in acute myocardial infarction. *Heart J* 1999; 40:267-273.

-. Ozturk H., Ozturk H., Terzi E.H., Bugdayci G., Duran A., Interleukin 10 reduces testicular damage in experimental testicular ischemia/reperfusion injury, *Urology* 2014 Feb;83(2):508-506.

-. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007Jan; 87(1):315-424.

-. Pagani F., Bonetti G., Panteghini M. Comparative study of cardiac troponin I and T measurements in a routine extra-cardiological clinical setting. *J Clin Lab Anal*, 2001; 15: 210-214.

-. Panteghini M. Biochemical assesment of myocardial damage with new diagnostic tools. *Cardiologia*, 1999; 44: 419-425.Parks D.A., Granger D.N., Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology, *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 1986:548 87–99.

-. Pérez-Cárceles MD, Avances en el diagnóstico post mortem del sufrimiento cardiaco.1993. *Thesis /dissertation* 1993.

-. Pérez-Cárceles MD, Noguera J, Jiménez JL, Martínez P, Luna A, Osuna E. Diagnostic efficacy of biochemical markers in diagnosis post-mortem of ischaemic heart disease. *Forensic Sci Int.* 2004 May;142(1):1-7.

-. Pérez-Cárceles MD, Osuna E, Vieira DN, Luna A. Usefulness of myosin in the post mortem diagnosis of myocardial damage. *Int J Legal Med.* 1995a;108(1):14-18.

-. Pérez-Cárceles MD, Osuna E, Vieira DN, Martínez A, Luna A. Biochemical assessment of acute myocardial ischaemia. *J Clin Pathol.* 1995b Feb;48(2):124-128.

-. Petrone WF, English DK, Wong K, McCord JM. Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980 Feb;77(2):1159-1163.

-. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction.Experimenta lobservations and clinical implications.*Circulation.*1990Apr; 81(4):1161–1172.

-. Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH. Trends Poly (ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. *Pharmacol Sci.* 1999 Apr;20(4):171-181.

- . Pieper AA, Walles T, Wei G, Clements EE, Verma A, Snyder SH, Zweier JL Myocardial postischemic injury is reduced by polyADPribose polymerase-1 gene disruption. *Mol Med* 2000Apr; 6(4):271-282.
- . Pillai JB, Russell HM, Raman J, Jeevanandam V, Gupta MP Increased expression of poly(ADP-ribose) polymerase-1 contributes to caspase-independent myocyte cell death during heart failure. *Am J PhysiolHeart Circ Physiol* 2005Feb;288(2):486-496.
- . Prinjha R, Moore SE, Vinson M, Blake S, Morrow R, Christie G, Michalovich D, Simmons DL, Walsh FS. Inhibitor of neurite outgrowth in humans. *Nature*.2000Jan;403: 383–384.
- . Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, Blom N, Borggrefe M, Camm J, Elliott PM, Fitzsimons D, Hatala R, Hindricks G, Kirchhof P, Kjeldsen K, Kuck KH, Hernandez-Madrid A, Nikolaou N, Norekvål TM, Spaulding C, Van Veldhuisen DJ. Authors/Task Force Members. Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Europace*. 2015 Nov;17(11):1601-1687.
- . Puppel K, Kapusta A, Kuczyńska B The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review. *Ç J Sci Food Agric*. 2015 Aug;95(11):2179-2184.
- . Ramos V, Valenzuela A, Villanueva E, Miranda MT. Antioxidant-related enzymes in myocardial zones and human pericardial fluid in relation to the cause of death. *Int J Legal Med*. 1997;110(1):1-4.
- . Ratych RE, Bulkley GB. Free-radical-mediated postischemic reperfusion injury in the kidney. *J Free Radic Biol Med*. 1986;2(5-6):311-319.
- . Ravingerová T, Slezák J, Tribulová N, Dzurba A, Uhrík B, Ziegelhöffer A. Free oxygen radicals contribute to high incidence of reperfusion-induced arrhythmias in isolated rat heart. *Life Science* 1999; 65:1927-1930.
- . Recomendación nº R99/3 of the committee of ministers to member states of harmonization of medico-legal autopsy rules, *Forensic Sci inter*. 2000; 111: 5-58.
- . Reimer K.A., Lowe J.E., Rasmussen M.M., Jennings R.B., The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs, *Circulation* 1977;56(5):786–794.
- . Rodríguez Font E Viñolas Prat X., [Sudden death (III). The causes of sudden death. Problems at the time of establishing and classifying the types of death]. *Rev Esp Cardiol*.1999 Nov;52(11):1004-1014.

- .-Rolli, V., Ruf, A., Augustin, A., Schulz, G.E., Ménissier-de Murcia, J., and de Murcia, (eds. G. de Murcia and S. Shall GPoly(ADP-ribose) polymerase: Structure and function. In From DNA damage and stress signalling to cell death: Poly ADP-ribosylation reactions. *Oxford University Press, New York.* . 2000., pp. 35–79.
- .- Rosado MM, Bennici E, Novelli F, Pioli C. Beyond DNA repair, the immunological role of PARP1 and its siblings. *Immunology*. 2013 Aug;139(4):428-437.
- .-Rouleau M, Aubin RA, Poirier GG. Poly(ADP-ribosyl)ated chromatin domains: access granted. *J Cell Sci*. 2004 Feb 29;117(6):815-825.
- .- Rubbo H, O'Donnell V. Nitric oxide, peroxynitrite and lipoxygenase in atherogenesis: Mechanistic insights. *Toxicology*. 2005 Mar; 208(2):305-317.
- .- Sandritter W. Pathologic anatomy of shock. *Dtsch Med J*. 1967 Jul 5;18(13):408-411.
- .- Saraste A, Pulkki K, Kallajoki M, Henriksen K, Parvinen M, Voipio-Pulkki LM. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997 Jan; 95(2):320–323.
- .- Saukko P. Medicolegal investigative system and sudden death in Scandinavia. *Nihon Hoigaku Zasshi*. 1995 Dec;49(6):458-465.
- .- Schmandke A, Strittmatter SM. ROCK and Rho: biochemistry and neuronal functions of Rho-associated protein kinases. *Neuroscientist*. 2007 Oct.;13(5): 454–469.
- .- Schreiber V, Dantzer F, Ame JC, de Murcia G. Poly(ADP-ribose): Novel functions for an old molecule. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006 Jun; 7(7):517–528.
- .- Schwab ME. Functions of Nogo proteins and their receptors in the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2010 Dec; 11(12): 799–811.
- .- Shall, S. ADP-ribosylation of proteins: a ubiquitous cellular control mechanism. *Biochem Soc Trans* 1989 Apr;17(2): 317-322.
- .- Shibata Y, Voss C, Rist JM, Hu J, Rapoport TA, Prinz WA, Voeltz GK. The reticulon and DP1/ Yop1p proteins form immobile oligomers in the tubular endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2008 Jul; 283(27): 18892–18904.
- .- Shieh WM, Amé JC, Wilson MV, Wang ZQ, Koh DW, Jacobson MK, Jacobson EL. Poly(ADP-ribose) polymerase null mouse cells synthesize ADP-ribose polymers. *J Biol Chem*. 1998 Nov 13;273(46):30069-30072.
- .- Shoen FJ. el corazón en patología funcional y estructural. *K.V.C.T.R. Cotran RS ediciones McGraw-Hill interamericana* 2000; 571- 631.
- .- Sivanandam AS, Mohan S, Kapur S, Kita H, Lau KH, Bagi G, Baylink DJ, Qin X. Covalent interaction between proform of eosinophil major basic protein (proMBP) and

pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) is a cell-mediated event and required for proMBP inhibition of the catalytic activity of PAPP-A. *Arch Biochem Biophys* 2004Mar; 423(2):343-350.

-. Smith S. Trends Biochem The world according to PARP. *Sci.* 2001 Mar;26(3):174-179.

-. Snoeijs M.G., van Heurn L.W.,Buurman W.A, Biological modulation of renal ischemia-reperfusion injury, *Curr. Opin. Organ Transpl.* 2010Apr; 15(2):190–199.

-. Sparkes I, Tolley N, Aller I, Svozil J, Osterrieder A, Botchway S, Mueller C, Frigerio L, Hawes C. Five Arabidopsis reticulon isoforms share endoplasmic reticulum location, topology, and membrane-shaping properties. *Plant Cell* 2010Apr;22(4): 1333–1343.

-. Stewart RV, Zumwalt RE, Hirsch CS, Kaplan L. Post mortem diagnosis of myocardial disease by enzyme analysis of pericardial fluid. *Am J Clin Pathol.* 1984 Oct;82(4):411-417.

-. Subirana MT, Juan-Babot JO, Puig T, Lucena J, Rico A, Salguero M, Borondo JC, Ordóñez J, Arimany J, Vázquez R, Badimon L, Thiene G, de Luna AB. Specific characteristics of sudden death in a mediterranean Spanish population. *Am J Cardiol.* 2011 Feb;107(4):622-627.

-. Szabados E, Literati-Nagy P, Farkas B, Sumegi B (BGP-15, a nicotinic amidoxime derivate protecting heart from ischemia reperfusion injury through modulation of poly(ADP-ribose) polymerase. *Biochem Pharmacol.* 2000Apr;59(8):937-945.

-. Szabó C, Dawson VL. Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci.* 1998 Jul;19(7):287-298.

-. Szabó C, Pacher P, Swanson RA. Novel modulators of poly(ADP-ribose) polymerase. *Trends Pharmacol Sci.* 2006 Dec;27(12):626-630.

-. Szabó C, Zingarelli B, O'Connor M, Salzman AL. DNA strand breakage, activation of poly (ADP-ribose) synthetase, and cellular energy depletion are involved in the cytotoxicity of macrophages and smooth muscle cells exposed to peroxynitrite. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996Mar;93:1753–1758.

-. Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett* 2003Apr;140–141:105–112.

-. Szabó G, Liaudet L, Hagl S, Szabó C, Poly(ADP-ribose) polymerase activation in the reperfused myocardium. *Cardiovasc Res.* 2004 Feb 15;61(3):471-80.

-. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep.* 2006Sep; 7(9):880–885.

- Tanaka M, Ito H, Adachi S, Akimoto H, Nishikawa T, Kasajima T, et al. Hypoxia induces apoptosis with enhanced expression of Fas antigen messenger RNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ Res.* 1994Sep; 75(9):426–433.
- Taylor CW, Dellis O. Plasma membrane IP3 receptors. *Biochem Soc Trans* 2006Nov.34(5): 910–912.
- Thuerlauf DJ, Marcinko M, Gude N, Rubio M, Sussman MA, Glembotski CC. Activation of the unfolded protein response in infarcted mouse heart and hypoxic cultured cardiac myocytes. *Circ Res.* 2006Aug; 99(3):275–282.
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD; Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction, Katus HA, Lindahl B, Morrow DA, Clemmensen PM, Johanson P, Hod H, Underwood R, Bax JJ, Bonow RO, Pinto F, Gibbons RJ, Fox KA, Atar D, Newby LK, Galvani M, Hamm CW, Uretsky BF, Steg PG, Wijns W, Bassand JP, Menasché P, Ravkilde J, Ohman EM, Antman EM, Wallentin LC, Armstrong PW, Simoons ML, Januzzi JL, Niemenen MS, Gheorghide M, Filippatos G, Luepker RV, Fortmann SP, Rosamond WD, Levy D, Wood D, Smith SC, Hu D, Lopez-Sendon JL, Robertson RM, Weaver D, Tendera M, Bove AA, Parkhomenko AN, Vasilieva EJ, Mendis S. Third Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation.* 2012 Oct 16;126(16):2020-2035.
- Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2007;28:2525–2538; *Circulation.* 2007;116:2634 –2653; *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2173–2195.
- Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, Mueller C, Lindahl B, Blankenberg S, Huber K, Plebani M, Biasucci LM, Tubaro M, Collinson P, Venge P, Hasin Y, Galvani M, Koenig W, Hamm C, Alpert JS, Katus H, Jaffe AS; Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J.* 2012 Sep;33(18):2252-2257.
- Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, Lindahl B, Giannitsis E, Hasin Y, Galvani M, Tubaro M, Alpert JS, Biasucci LM, Koenig W, Mueller C, Huber K, Hamm C, Jaffe AS; Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J.* 2010Sep;31(18):2197–2204.
- Tolley N, Sparkes I, Craddock CP, Eastmond PJ, Runions J, Hawes C, Frigerio L. Transmembrane domain length is responsible for the ability of a plant reticulon to shape endoplasmic reticulum tubules in vivo. *Plant J* 2010 Nov; 64(3): 411–418.

- Tóth-Zsámboki E, Horváth E, Vargova K, Pankotai E, Murthy K, Zsengellér Z, Bárány T, Pék T, Fekete K, Kiss RG, Préda I, Lacza Z, Gerö D, Szabó C. Activation of poly(ADP-ribose) polymerase by myocardial ischemia and coronary reperfusion in human circulating leukocytes. *Mol Med*. 2006 Sep-Oct;12(9-10):221-228.
- Tsujimoto Y, Nakagawa T, Shimizu S. Mitochondrial membrane permeability transition and cell death. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Sep-Oct; 1757(9-10):1297-1300.
- Van Engeland M, Nieland LJ, Ramaekers FC, Schutte B, Reutelingsperger CP. Annexin V affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure. *Cytometry*. 1998 Jan; 31(1):1-9.
- Vanderklish PW, Bahr BA. The pathogenic activation of calpain: a marker and mediator of cellular toxicity and disease states. *Int J Exp Pathol*. 2000 Oct;81(5):323-339.
- Vargas-Barrón J, Romero-Cárdenas A, Roldána F, Vázquez-Antona C A. Infarto agudo de aurícula y ventrículo derechos *Rev Esp Cardiol*. 2007 Jan;60(1):51-66.
- Vergely C, Maupoil V, Benderitter M, Rochete L. Influence of the severity of myocardial ischemia on the intensity of ascorbyl free radical release and postischemic recovery during reperfusion. *Free Radic Biol Med* 1998; 24:470-479.
- Virág L, and Szabo C The Therapeutic Potential of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. *Pharmacolog Rev* 2002 Sep; 54(3):375-429.
- Virág L, Salzman AL, Szabó C. Poly(ADP-ribose) synthetase activation mediates mitochondrial injury during oxidant-induced cell death. *J Immunol*. 1998 Oct 1;161(7):3753-3759.
- Virág L, Szabo E, Gergely P, Szabo C. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol Lett* 2003 Apr;140-141:113-124.
- Virág, L. Structure and function of poly(ADP-ribose) polymerase-1: role in oxidative stress-related pathologies. *Curr Vasc Pharmacol* 2005 Jul; 3(3) 209-214.
- Virág L, Bai P, Bak I, Pacher P, Mabley JG, Liaudet L, Bakondi E, Gergely P, Kollai M, Szabó C. Effects of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition on inflammatory cell migration in a murine model of asthma. *Med Sci Monit* 2004 Mar;10(3):77-83.
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 May;20(5):1262-1275.
- Virmani R, Burke AP, Farb A. Sudden cardiac death. *Cardiovasc pathol*. 2001 Nov-Dec; 10(6):275-272.

- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000May; 20(5):1262-1275.
- Virmani,R., Roberts W.C. Sudden cardiac death. *Hum pathol* 1987May; 18(5): 485-492.
- Vollmar B., Menger M.D., Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences, *Langenbecks Arch. Surg.* 2011 Jan;396(1):13-29.
- Wang Y, Kim NS, Haince JF, Kang HC, David KK, Andrabi SA, Poirier GG, Dawson VL, Dawson TM. Poly(ADP-ribose) (PAR) binding to apoptosis-inducing factor is critical for PAR polymerase-1-dependent cell death (parthanatos). *Sci Signal* 2011 Apr 5;4(167):ra20.
- Wartman WB. Report on the survey of the heart infarction in the U.S.A. for 1 June 1964 to 31 May 1965. *Pathol Microbiol (Basel).* 1967;30(5):546-556.
- Wu AHB., Apple FS., Gibler WB., Jesse RL., Warhsaw MM., Valdés R Jr. National Academy of Clinical Biochemistry standards of laboratory practice: recommendations for use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem*, 1999; 45: 1104-1121.
- Xin Luo and W. Lee Kraus. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. *Genes Dev.* 2012 Mar; 26(5): 417–432.
- Xu S, Bai P, Little PJ, Liu P. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) in atherosclerosis: from molecular mechanisms to therapeutic implications. *Med Res Rev.* 2014 May;34(3):644-675.
- Yan YP, Lang BT, Vemuganti R, Dempsey RJ ("Galectin-3 mediates post-ischemic tissue remodeling". *Brain Research* 2009 Sep;1288: 116–124.
- Yang Z, Zingarelli B, Szabó C. Effect of genetic disruption of poly (ADP-ribose) synthetase on delayed production of inflammatory mediators and delayed necrosis during myocardial ischemia-reperfusion injury. *Shock.* 2000 Jan;13(1):60-66.
- Yu SW, Wang H, Poitras MF, Coombs C, Bowers WJ, Federoff HJ, Poirier GG, Dawson TM, Dawson VL. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. *Science.* 2002 Jul 12;297(5579):259-263.
- Zamzami N, Marchetti P, Castedo M, Hirsch T, Susin SA, Masse B, Kroemer G. Inhibitors of permeability transition interfere with the disruption of the mitochondrial transmembrane potential during apoptosis. *FEBS Lett.* 1996Apr; 384(1):53–57.
- Zander H, Hettich E, Greiff K, Chatwell L, Skerra A. Biochemical characterization of the recombinant human Nogo-A ectodomain. *FEBS J* 2007May; 274(10): 2603–2613.

- Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature* 2008Jul;454(7203):455-462.
- Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, Li DR, Zhao D, Bessho Y, Kamikodai Y, Tsuda K, Okazaki S, Maeda H. Post mortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy. *Leg Med (Tokyo)*. 2007 Sep;9(5):241-250.
- Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, Li DR, Zhao D, Oritani S, Kamikodai Y, Tsuda K, Okazaki S, Maeda H. Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 1. Analysis with special regard to traumatic causes of death. *Leg Med (Tokyo)*. 2006; 8:86-93.
- Zhu P., Li J.X, Fujino M., Zhuang J., Li X.K., Development and treatments of inflammatory cells and cytokines in spinal cord ischemia-reperfusion injury, *Mediat. Inflamm.* 2013 Jul; 701970.
- Zingarelli B, Cuzzocrea S, Zsengellér Z, Salzman AL, Szabó C. Protection against myocardial ischemia and reperfusion injury by 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase. *Cardiovasc Res*. 1997 Nov;36(2):205-215.
- W1. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined - a consensus document of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000;21:150–113 (Also published in *J Am Coll Cardiol* 2000;36: 959–969).

