

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS EN LA INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA DE DROGAS DE ABUSO.

TABERNERO DUQUE M.J.¹, BERMEJO BARRERA AM.¹

RESUMEN.

El consumo de drogas de abuso ha pasado a ser un fenómeno mundial que afecta a todos los países. Por ello, se hace necesario intensificar el control y regulación sobre el consumo y tráfico de estas sustancias.

El análisis de muestras biológicas y de secuestro adquiere una gran importancia. Los laboratorios deben ser capaces de detectar cada vez un mayor número de sustancias diferentes y usar métodos de detección e identificación rápidos, además de fiables y específicos.

La interpretación de resultados toxicológicos es difícil ya que las drogas y/o sus metabolitos se encuentran en muy pequeñas concentraciones y siempre existe la posibilidad de interferencias por tratarse de matrices complejas.

Son muchos los factores a tener en cuenta en este tipo de análisis, tanto relativos a la sustancia a investigar como a la matriz biológica analizada.

PALABRAS CLAVE: Drogas de abuso, Muestras biológicas, Investigación toxicológica, Interpretación de resultados.

INTRODUCCIÓN:

La historia de la toxicología está fuertemente ligada al uso del Arsénico y otros metales como componente de numerosos medicamentos de amplia aplicación desde la antigüedad y como veneno con el fin de provocar la muerte. Las descripciones de envenenamiento de Tito Livio y Tácito señalan al arsénico como el veneno fundamental en la Roma Republicana que fue utilizado como arma política [1].

El miedo a morir envenenado fue constante en la Edad Media y Renacimiento, tomando los personajes importantes de la época medidas para evitar ser asesinados por este medio; a tal extremo que se impuso que las personas de cierta relevancia fueran "autopsiadas" para descartar éste método como causa de muerte. Esto trajo aparejado un rápido avance en el conocimiento de la patología humana, no sólo de origen tóxico, sino también de otras etiologías.

En 1798 Plenck afirma que el método para confirmar las intoxicaciones es comprobar la presencia del tóxico en el cadáver. Sin embargo, en ese momento aún se carecía de la metodología analítica necesaria para llevar a cabo esta identificación. Fueron los trabajos del español Orfila (1787 – 1853) los que pusieron las bases de la toxicología como ciencia [2].

A raíz de los avances químicos que van surgiendo, la Toxicología Forense adquiere un gran desarrollo que se va consolidando a medida que sus resultados analíticos pueden ser confirmados mediante la variada tecnología instrumental, cada vez más específica y sensible, de que hoy día se dispone en los laboratorios químico-forenses.

En cuanto a las drogas de abuso, han pasado a ser un fenómeno global que afecta a países desarrollados y en vías de desarrollo. La dimensión internacional de este problema, y lo diverso y complejo del mismo, obliga a las

1 Servicio de Toxicología. Instituto de Medicina Legal. Facultad de Medicina. C/ San Francisco s/n. 15782 Santiago de Compostela
Correspondencia: mj.taberbero@usc.es

naciones a intensificar sus esfuerzos en el control que deben ejercer, así como en sus regulaciones.

La ley por lo tanto, para que sea aplicada, debe basarse en datos analíticos concretos y fiables, tanto en materiales y sustancias de secuestro como en muestras biológicas, analizando las drogas presentes y/o sus metabolitos en éstas últimas. Los laboratorios periciales deben ser capaces de detectar cada vez mayor número de sustancias diferentes y de usar métodos de detección e identificación que sean rápidos y, al mismo tiempo, fiables y específicos.

En relación con el análisis de muestras biológicas, las técnicas y métodos a aplicar deben poseer una gran sensibilidad, ya que la/s drogas y/o sus metabolitos se encuentran en muy pequeñas concentraciones y siempre existe la posibilidad de interferencias por ser matrices complejas, lo cual obliga a tener presente las dificultades que muchas veces ofrece la interpretación de los resultados analíticos hallados en ellas.

INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA DE DROGAS DE ABUSO.

La disposición de la droga en un fluido biológico y en los distintos tejidos dependerá del proceso de absorción, distribución, biotransformación y excreción. Las propiedades físicas y químicas de la droga, la vía de administración, flujo sanguíneo del tejido, y la concentración, duración y frecuencia de exposición a la droga determinarán los efectos de dicha exposición. El peso molecular, el pK de la droga, su grado de unión a proteínas y lipofilia, determinarán en las distintas matrices biológicas la posibilidad de encontrar drogas en ellas [3].

La interpretación de las concentraciones de las sustancias halladas analíticamente en los diversos fluidos biológicos es muy compleja.

No es fácil llegar a obtener valores de referencia sobre los niveles de sustancias potencialmente tóxicas en muestras biológicas humanas para los distintos xenobióticos (medicamentos, drogas de abuso, metales, disolventes, gases, plaguicidas, productos fitosanitarios y fertilizantes, reactivos químicos, etc). Esto es debido a que existe gran variabilidad en los datos suministrados por los distintos autores. Además, las tablas de valores de referencia no suelen distinguir entre sangre total y plasma o suero (unas concentraciones se refieren a sangre total y otras a plasma o suero), resultando muchas veces escasamente comparables.

A la hora de acudir a una tabla con valores de referencia para distintas sustancias (concentraciones normales, habituales o terapéuticas, tóxicas y letales o postmortem, en sangre total, suero o plasma y orina) tenemos que saber que ésta únicamente nos servirá de guía para la interpretación de los análisis cuantitativos en muestras biológicas de casos clínicos toxicológicos o forenses, de pacientes vivos o de cadáveres, pero siempre es necesario tener en cuenta que los datos de cada caso concreto no deben tomarse como valores absolutos ni de forma aislada, ya que existen innumerables variables que pueden influir en las concentraciones; por ello, deben considerarse junto con los demás factores que rodean al caso. Entre las VARIABLES podemos citar:

- 1.- CARACTERÍSTICAS DE LA SUSTANCIA: que condicionan su toxicocinética y metabolismo. No sólo es necesario conocer cuáles son sus vías principales de administración/absorción, sino también las constantes que definen sus proporciones y la velocidad de las reacciones (el mecanismo de toxicidad de cada sustancia es distinto). Hay que diferenciar si el compuesto identificado analíticamente es el original o un metabolito del mismo. Como ejemplo, es muy frecuente que personas inexpertas se pregunten la razón por la cual, en un caso de muerte por Heroína, ésta no sea detectada en sangre, pero sí lo sea la

morfina; este hecho se explica por la inmediata y total metabolización de la primera a la segunda. Siempre que haya metabolitos activos, se deben valorar conjuntamente.

Hay que evitar hacer una comparación errónea de diferentes fármacos relacionados químicamente entre sí pero cuyas características farmacocinéticas o farmacodinámicas son distintas (ejemplo: sustituir una Benzodiacepina de acción corta por una de acción prolongada sin tener en cuenta que tienen diferente tiempo de acción por su diferente eliminación).

- 2.- DOSIS: es tan importante la cantidad, como si la dosis es única o repetida. Condiciona en gran medida la toxicocinética, con posible saturación de los procesos.
- 3.- RUTA DE EXPOSICIÓN: también puede ser única o múltiple y también condiciona la toxicocinética.
- 4.- CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y PATOLÓGICAS DEL SUJETO: que pudieran modificar la toxicocinética y la sensibilidad a la sustancia. Así por ejemplo, se suelen acentuar los efectos tóxicos en los siguientes casos: alteración de los mecanismos de eliminación, edades extremas, sexo femenino, embarazo, patología previa (hepática, renal,...), grupos poblacionales polimórficos, etc.
Hay que tener en cuenta siempre las diferencias individuales:

- a. Diferente sensibilidad de los receptores (causas genéticas, adquiridas: tolerancia, o circunstanciales).
- b. Diferente capacidad de las proteínas plasmáticas para mantenerse unidas a las sustancias que transportan (el fármaco libre es el que ejerce su acción y no el unido a proteínas).
- c. Diferente adaptación metabólica (Tolerancia, desviación de la síntesis de metabolitos hacia otros más o menos tóxicos).

- d. Cronotoxicología: los ritmos biológicos influyen sobre la toxicidad de las sustancias.

- 5.- TOLERANCIA: si existe, los pacientes con tolerancia pueden ser resistentes a concentraciones muy superiores.
- 6.- INTERVALO DE TIEMPO TRANSCURRIDO desde la absorción hasta la toma de la muestra.
- 7.- MEDIDAS TERAPÉUTICAS aplicadas al paciente antes de la toma de la muestra.
- 8.- PRESENCIA CONCOMITANTE de otras sustancias o metabolitos. Cuando se da la acción de más de un xenobiótico por sinergia, potenciación o antagonismo se puede alterar la respuesta del individuo.
- 9.- EN MUESTRAS OBTENIDAS DE CADÁVERES: es importante la redistribución postmortem y el intervalo de tiempo transcurrido desde la muerte hasta la toma de la muestra [4]. La difusión postmortem se produce de los lugares de concentraciones más altas de los órganos sólidos hacia la sangre, por lo que con el tiempo ocurre una elevación de los niveles sanguíneos. Hay niveles más elevados en los vasos centrales (arteria y vena pulmonar) y en la sangre cardíaca; los niveles más bajos se obtienen en los vasos periféricos (vena subclavia y femoral).

Los procesos autolíticos putrefactivos producen gases que pueden impulsar los xenobióticos de unos órganos o vasos sanguíneos a otros. A estos se añade la redistribución causada por la acción de la gravedad hacia las partes más declives del cadáver.

- 10.- DIFERENTES CRITERIOS CLÍNICOS, TOXICOLÓGICOS O FORENSES DE CLASIFICACIÓN [5].
- 11.- DIFERENTES MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS Y ESTABILIDAD

DEL COMPUESTO ANALIZADO [6].

Hay diferencias debidas a las propias técnicas analíticas:

-a. Distinta sensibilidad y exactitud de las técnicas analíticas.

-b. Técnicas analíticas que distinguen entre xenobióticos y metabolitos activos o inactivos, y las que no lo hacen.

-c. Técnicas analíticas que emplean como referencias disoluciones acuosas del producto: no consideran que en las muestras orgánicas hay proteínas y lípidos y que hay interferencias de los restos orgánicos, los metabolitos y los derivados moleculares del tóxico original.

- 12.-SOPORTE ESTADÍSTICO: sólo existe el suficiente para ciertas sustancias de uso más frecuente (etanol, salicilatos, paracetamol, paracuat,...).

De todo esto no se debe deducir que los resultados analíticos no posean utilidad, sino que para interpretar los resultados cuantitativos correctamente se deben tener en cuenta muchas variables y circunstancias [7], y por esto el resultado cuantitativo es a menudo difícil de interpretar, a lo que hay que sumar el hecho de que frecuentemente no se conocen valores de referencia, con lo que no se sabe si la concentración hallada es normal, tóxica o letal.

METODOLOGÍA DE UNA INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA:

La metodología a seguir está condicionada por diversos factores:

- Información recibida.
- Tipo de muestra biológica remitida.
- Disponibilidad de técnicas analíticas.
- Tiempo disponible.
- En cuanto a la Información Recibida:
- Profesión del intoxicado.
- Tratamientos médicos previos.
- Medidas terapéuticas previas.
- Hábitos conocidos del paciente.
- Signos de sospecha de intoxicación.

Una Investigación Toxicológica puede realizarse sobre 2 tipos de Medios, fundamentalmente:

- Muestras Biológicas.
- Sustancias Sólidas.

El análisis de muestras biológicas es el más habitual en un laboratorio de Toxicología Forense; por ello, lo veremos un poco más en detalle.

MUESTRAS BIOLÓGICAS

La investigación toxicológica de drogas de abuso puede realizarse bien por un consumo reciente o por un uso crónico de las mismas y, según el caso, las muestras biológicas a utilizar son diferentes. Desde el punto de vista clínico y/o judicial pueden presentarse ambas situaciones, y solo la finalidad del análisis condiciona el tipo de muestra [8].

- *I.- CONSUMO RECIENTE DE DROGAS:*

Cuando se trata de demostrar un consumo reciente de drogas (en las últimas horas) bien al tratarse de un caso de intoxicación aguda o porque su consumo está relacionado con alguna actividad delictiva, las muestras biológicas a utilizar son la Orina, el Contenido gástrico, la Saliva y la Sangre.

1.- Orina: presenta grandes “ventajas” sobre la sangre:

- las concentraciones de tóxico son muy superiores a las de la sangre con lo que no es imprescindible disponer de técnicas analíticas que permitan la mayor sensibilidad; técnicas éstas que, además de no poseer todos los laboratorios, requieren para su utilización personal especializado.
- posibilidad de empleo de técnicas de cribado de suficiente sensibilidad, que además de no necesitar personal

especializado, facilitan un resultado en un mínimo plazo de tiempo y no requieren preparación previa de la muestra.

- no necesita la adición de conservantes
- disponibilidad de mayor cantidad de muestra

La única “desventaja” es que las cantidades encontradas en la orina no se correlacionan necesariamente con el estado clínico del sujeto, pues al ser el riñón una de las vías de eliminación, las drogas se pueden acumular en ella.

2.- Contenido gástrico: (proveniente del vaciado gástrico realizado por lavado o emesis forzada, o bien el propio vómito espontáneo producido en algunos casos), es de gran utilidad al encontrarse en el mismo altas concentraciones de los tóxicos cuando éstos son ingeridos, como ocurre con algunas drogas (como las drogas de diseño u otras administradas por la vía digestiva). Sobre él no pueden emplearse técnicas de cribado comercializadas porque requiere una preparación previa de la muestra (purificación), pero sí se aplican otras técnicas no sofisticadas con sensibilidad suficiente, debido a las altas concentraciones que en él se encuentran de las sustancias ingeridas todavía sin transformar. Esta muestra biológica tampoco requiere la utilización de conservantes.

3.- Sangre: es la muestra idónea para realizar los análisis Cuantitativos, una vez identificado el tóxico, pues los niveles de éste en la misma son proporcionales al grado de intoxicación y por lo tanto al grado de afectación clínica del sujeto. Sin embargo es una muestra biológica en la que las concentraciones del tóxico son mucho menores por lo que se han de utilizar técnicas analíticas de gran sensibilidad que requieren un paso previo de separación del tóxico de la misma y posterior purificación, con lo que se prolonga el tiempo de análisis.

Además, sobre ella no se pueden aplicar algunas técnicas de cribado disponibles en el mercado hoy en día.

4.- Saliva: es una muestra biológica que ha comenzado a utilizarse en la última década para la detección de drogas de abuso, al comprobarse que es una vía de eliminación del organismo y en ella quedan retenidas las sustancias algún tiempo. Por otra parte, al ser un ultrafiltrado del líquido intersticial (de pH 5,8-6,2 y una composición con un 99% de agua), sólo se encuentran las fracciones libres de las drogas de abuso, de las que dependen sus efectos fisiológicos, por lo que desde el punto de vista clínico los análisis cuantitativos realizados sobre la misma pueden ser de gran utilidad.

La saliva presenta sustancias producidas por las glándulas salivares y sustancias transportadas desde la sangre a través de las membranas lipídicas de las células acinus de las glándulas salivares. Alrededor de 1 litro de saliva mixta es producida, en un período de 24 horas, por las glándulas submandibular (65%), parótida (23%), sublingual (4%) y otras pequeñas glándulas de la cavidad oral (cerca del 8%).

Debido a las características de las membranas celulares, predominantemente lipídicas y con poros acuosos, la difusión a través de ellas depende principalmente de 3 factores: Peso molecular, Liposolubilidad y Grado de ionización de las sustancias. Por eso, el comportamiento de los distintos fármacos frente a este sistema difiere según sus características físico-químicas, resultando en una razón entre concentración salivar y plasmática particular para cada sustancia.

Los fármacos llegan a la saliva mayoritariamente por el mecanismo de difusión pasiva, pero algunas sustancias utilizan otros mecanismos de difusión, como la filtración a través de los poros acuosos de las membranas, el transporte activo y la difusión facilitada.

El grado de ionización tiene una importante función en el transporte transmembrana, ya que sólo las moléculas neutras (no-ionizadas) atraviesan la membrana lipídica, acumulándose del lado donde el pH favorezca una mayor ionización de los compuestos.

En el hombre, la saliva es normalmente más ácida que la sangre y su pH oscila entre 5,8 y 7,0. Pero la estimulación de la secreción salivar causa un aumento concomitante de la secreción de bicarbonato, con aumento del pH hasta un máximo de 8,0. Esto puede alterar la relación saliva/plasma para sustancias que están altamente ionizadas a pH fisiológico, como los ácidos con $pK_a < 8,5$ y las bases con $pK_a > 5,5$. Para las sustancias neutras, los ácidos débiles ($pK_a > 8,5$) y las bases débiles ($pK_a < 5,5$), que característicamente no están altamente ionizados a pH fisiológico, el cambio del pH salivar tiene poca influencia sobre la relación saliva/plasma.

En condiciones normales, la relación saliva/plasma es igual o menor que 1 para fármacos ácidos (fenobarbital, cafeína), igual o mayor que 1 para drogas básicas (metadona, codeína), e igual a 1 para las neutras, los ácidos débiles y las bases débiles (etanol, paracetamol). No obstante, en el caso de las drogas ligadas a proteínas esta relación es válida solamente para su fracción libre.

Se han investigado varios fármacos en saliva y se ha observado que, mientras algunos son adecuados para su monitorización en saliva (Cafeína, Diazepan, Digoxina, Etanol, Paracetamol, Sulfonamidas, Teofilina,...) ya que presentan una correlación entre concentración plasmática y salivar suficiente, otros no resultan adecuados para este tipo de análisis (Ampicilina, Cloxacilina, Gentamicina, Tobramicina).

Presenta importantes ventajas sobre las demás muestras biológicas, como son la facilidad de obtención, y dificultad de adulteración (cosa que habitualmente puede

ocurrir con otras muestras biológicas como la orina).

Se han realizado numerosos estudios de correlación entre los niveles plasmáticos y en saliva para diferentes drogas de abuso, encontrándose resultados válidos pero no concluyentes, pues existen numerosas variables que modifican las concentraciones en la misma, como el pH salivar, el tipo de saliva y las propias características físico-químicas y metabólicas de cada droga que hacen que sean retenidas en ella más o menos tiempo, por lo que, en algunos casos, esta muestra no debe ser utilizada.

Droga	Tiempos de detección	
	Saliva	Orina
Cannabis	7-14 horas	5-20 días
Cocaína	5-20 horas	1-4 días
Fenciclidina	---	8-30 días
Opiáceos	3-24 horas	2 días
Anfetaminas	50 horas	2 días

Por ejemplo, en el caso de las anfetaminas, cuya vida media plasmática depende del pH urinario, por ser la vía renal la mayor ruta de eliminación, la saliva ha sido propuesta como muestra biológica idónea para investigación toxicológica de las mismas, pues se demostró en numerosos estudios que la concentración encontrada es tres veces superior a la del plasma y además dosis tan bajas como 10 mg, pueden ser detectadas en saliva incluso después de 50 horas de la administración [9].

Para la Fenciclidina se han realizado menos estudios al respecto, sin embargo se sabe ya que la concentración encontrada en saliva es entre 1.5 y 3 veces superior a la del plasma, aunque todavía no se sabe durante cuántas horas puede ser detectada.

La saliva presenta grandes ventajas frente a la sangre a la hora de la obtención de la

muestra, pero la dificultad en relacionar los resultados analíticos con el cuadro clínico del paciente es el principal motivo por el que no ha sido aún totalmente aceptada como muestra para la monitorización terapéutica. Se hacen necesarios estudios específicos para cada fármaco con el fin de determinar su relación saliva/plasma y estudiar la adecuación de la saliva como muestra para su determinación diagnóstica.

Estamos pues ante una muestra biológica que hasta ahora solo ha sido utilizada para evaluar la posibilidad de un consumo reciente de drogas de abuso, pero que cuando se realicen más estudios sobre la misma, podrá llegar a ser útil para distinguir un consumidor habitual de uno ocasional.

Una desventaja que presenta es que generalmente las cantidades de droga presentes en saliva son menores que en la orina, por lo que las técnicas analíticas que habitualmente utilizamos sobre ésta, no pueden ser aplicadas con la saliva, teniendo que recurrir a técnicas de mayor sensibilidad.

• **II.- CONSUMO CRÓNICO DE DROGAS:**

Cuando lo que se pretende es demostrar la existencia de un consumo crónico de drogas, o este consumo es esporádico pero continuado en el tiempo, las muestras citadas anteriormente no son útiles y debemos recurrir al cabello (y, en el caso de los recién nacidos, se puede utilizar el Meconio para este tipo de análisis).

1.- Meconio:

La exposición fetal a drogas tiene muchos efectos adversos sobre el neonato, entre los que cabe citar: bajo peso al nacer, pequeño perímetro cefálico y un riesgo importante de aborto y muerte. El diagnóstico correcto del consumo de drogas durante el embarazo es esencial, ya que si el niño recibe tratamiento y cuidados especializados, tendrá un mejor

desarrollo y aprendizaje. El diagnóstico también ayudará en la prevención de posteriores exposiciones a la droga en el neonato, por parte de su madre.

El Meconio es la primera materia fecal excretada por el recién nacido y es un excelente depósito de las drogas a las que el feto ha estado expuesto. Su análisis es ampliamente aceptado por las comunidades científicas y médicas, ya que tiene evidentes ventajas sobre el análisis de orina porque proporciona información sobre un largo período de tiempo y su recogida es sencilla [10].

Se han detectado varias drogas (y sus metabolitos) en el meconio. Sin embargo, el perfil metabólico de las drogas en el meconio es diferente del de la orina del neonato y/o de la de la madre.

Utilizando métodos cromatográficos e inmunoquímicos pueden determinarse drogas como: Cocaína, Anfetaminas, Opiáceos, Cannabinoides, Fenciclidina, Nicotina y Metadona.

En 1998 se publicó un estudio [11] en el que se analizó el meconio de 98 neonatos, utilizando HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución) y CG/EM (Cromatografía de gases-Espectrometría de masas), dando como resultado que el 82,7% de los niños daban positivo a una anterior exposición a agentes xenobióticos, distribuyéndose la proporción de la siguiente manera:

- ANESTÉSICOS LOCALES: 30 % (como la Lidocaína y la Mepivacaína).
- ADITIVOS ALIMENTARIOS: 25 % (como el Ionol).
- DROGAS ILÍCITAS: 11% (Cocaína, Morfina,...).
- ANALGÉSICOS: 10% (como la Meperidina).
- O T R A S D R O G A S : < 1 0 % (antihistamínicos, antidepresivos, adrenérgicos, anticonvulsivantes,

medicamentos antitusígenos, analépticos, hipnóticos y sedantes, y cardiotónicos).

En este estudio se pone, pues, de manifiesto la importancia del meconio como muestra para determinar un consumo anterior de drogas por parte de la madre, que tendrá repercusión en el feto y su desarrollo.

2.- Cabello:

Cuando se quiera constatar un consumo crónico o habitual de estas sustancias para justificar una situación clínica, generalmente patologías de tipo psiquiátrico asociadas al consumo habitual de este tipo de sustancias o con finalidad estrictamente judicial si se debe constatar el consumo habitual de drogas, se debe recurrir al análisis del cabello, ya que éste será la única muestra biológica en la que se puedan detectar las sustancias consumidas en los meses anteriores, quedando acumuladas en las matrices queratínicas, donde permanecen por un largo período de tiempo. La principal ventaja del cabello como muestra biológica es, evidentemente, el ser la única que permite constatar un consumo prolongado con anterioridad a la toma de muestra.

Para la correcta realización del análisis y su posterior interpretación, se requiere una adecuada recogida de muestra. Se toma para ello una cantidad de al menos 50 mg (un mechón pequeño), cortado lo más cerca posible de la raíz, para poder cubrir el espacio de tiempo más amplio posible, anotando cuál es el fragmento proximal y distal, sobre todo cuando lo que se pretende es conocer el modelo individual de consumo [12].

Las Fases de un análisis de pelo son:

- Procesamiento (lavar, secar, triturar y pesar).
- Extracción de la droga de la matriz queratínica.
- Análisis propiamente dicho.

a.- Lavado: Es el primer paso del tratamiento de la muestra, con el fin de eliminar la posible contaminación externa, que podría dar lugar a un falso positivo. Para ello existen varios procedimientos, y cualquiera de ellos es válido siempre que no destruya la matriz queratínica del pelo por su agresividad. Posteriormente, el cabello se seca en estufa a temperaturas no demasiado elevadas para no alterar aquellas drogas más volátiles (como es el caso de las feniletaminas). Una vez completamente seco el pelo se corta en pequeños trozos (o se pulveriza en un molino de muelas), y se pesa la cantidad que se quiera analizar (habitualmente 50 mg).

b.- Extracción: Es un proceso de hidrólisis necesario para separar la droga de la matriz queratínica del pelo. Ésta puede ser Ácida (HCl), Alcalina (NaOH) o Enzimática. En el caso de las anfetaminas, la hidrólisis ácida parece ser la más efectiva, y en el caso de los opiáceos y cocaína solemos utilizar la hidrólisis enzimática. La alcalina no debe utilizarse en el caso de la cocaína, ya que produciría una degradación espontánea de la misma.

c.- Análisis: es necesaria una técnica analítica de alta sensibilidad y especificidad debido a que la cantidad de muestra disponible no siempre es muy grande y las cantidades de droga encontradas pueden ser pequeñas, sobre todo en el caso de consumidores esporádicos. Se puede realizar un screening inmunológico previo pero la CG/EM es la técnica idónea para determinación y confirmación del consumo. La CG/EM permite diferenciar los principales metabolitos de las drogas encontradas así como la determinación simultánea de varias drogas a la vez y su cuantificación (lo que no permiten los

inmunoensayos). Para el análisis por CG/EM es necesario un paso previo de extracción que permita separar de la muestra los analitos buscados.

Existen una serie de factores que *influyen* en este tipo de determinación como son:

- mecanismo de incorporación de las drogas en el pelo
- contaminación ambiental
- tratamientos cosméticos
- color del pelo

En cuanto al *mecanismo de incorporación*, el cabello es una muestra biológica a la que llegan, vehiculadas por la sangre o el sudor, todas las sustancias consumidas por un individuo y quedan en él retenidas indefinidamente sin procesos de metabolización posterior, por lo que su detección no es complicada, si se dispone de cantidad suficiente de muestra.

Por ello hay que tener siempre en cuenta la posible contaminación externa del cabello por frecuentar ambientes donde las drogas se consuman por vía inhalatoria y por lo tanto existan cantidades apreciables en el ambiente o por manipulación cotidiana de estupefacientes, que pueden llegar a depositarse en la superficie externa del cabello, por lo que se ha de realizar un riguroso lavado de las muestras previo al análisis con el fin de evitar falsos resultados positivos y estudiar la distribución de metabolitos en el mismo, pues ella será la que permita distinguir una contaminación externa de un posible consumo.

Se estudiaron ya los posibles efectos que los tratamientos cosméticos puedan tener sobre la droga contenida en el pelo, observándose que, aún cuando algunos tratamientos agresivos puedan afectar los niveles de droga acumulados, nunca lo harán hasta el punto de que esta sea indetectable [13, 14]. La capacidad de detección de la droga en el pelo dañado por tratamientos cosméticos

dependerá de la eficacia del proceso de extracción de la misma, que debe ser capaz de extraer la droga de las regiones internas de la fibra capilar.

Por último, se demostró también que el color del pelo puede influir en la concentración de la droga retenida. Así se demostró que en usuarios de cocaína [15], aquellos de pelo marrón retienen menor cantidad que los de pelo negro y resultados similares se encontraron después de tratar el pelo en el laboratorio con diferentes drogas. Se cree que ello es debido a que la melanina juega un papel muy importante en la retención de las drogas en el mismo, lo que justificaría también ciertas diferencias raciales encontradas por diversos autores.

Cualquier tipo de pelo es válido para realizar la investigación toxicológica de drogas de abuso. Así, se puede utilizar tanto el pelo del cuero cabelludo como el axilar o púbico, pero teniendo en cuenta, por supuesto, las diferencias en la biología de cada uno de estos tres tipos de pelo, que habrán de ser consideradas al interpretar los resultados cuantitativos del análisis. El cabello en principio es más fácil de recoger como muestra, pero debería tenerse en cuenta la variación del grado de crecimiento en las distintas regiones del cuero cabelludo; de hecho este tipo de pelo es el que más crece y el que tiene mayor grado de variabilidad y además está expuesto a contaminaciones externas (agua, aire, polvo). Por otra parte, su integridad química y fisiológica puede estar más alterada ante los diferentes tratamientos cosméticos que puedan aplicarse. El pelo púbico tiene la ventaja aparente de estar menos expuesto a la contaminación ambiental y tratamientos cosméticos, sin embargo puede contaminarse por la orina o por la secreción de las glándulas apocrinas. No obstante esta muestra puede ser utilizada cuando no se disponga del pelo del cuero cabelludo, teniendo en cuenta que su crecimiento es más lento, y por lo tanto la cantidad de droga acumulada en el mismo, suele ser mayor.

Las *Aplicaciones del análisis del pelo* son múltiples:

- médico-legales
- estudio del modelo individual de drogodependencia
- controles postratamiento
- consumo de drogas en mujeres embarazadas y su paso al recién nacido
- estudios epidemiológicos a gran escala

En el *campo médico-legal* la determinación analítica de drogas de abuso en cabello ha supuesto un importante avance para demostrar la condición de drogodependiente de un individuo. La vida media de las drogas de abuso en fluidos biológicos es corta (24-48 horas postconsumo), a excepción de los derivados del cannabis cuya eliminación es más lenta. Por ello, solamente la existencia de señales de venopunción y los datos anamnésicos son, a veces, las únicas maneras de demostrar el consumo de drogas. Esto, unido al cambio actual de vías de consumo, puede agravar el problema al desaparecer los signos externos de drogadicción. El poder detectar este tipo de sustancias en el pelo es de gran importancia en el campo de la Toxicología Forense, al poder constatar la condición de drogodependiente de un individuo aún cuando los análisis de orina son negativos y no existan señales de venopunción [16].

La utilidad de este tipo de técnica fue puesta de manifiesto por numerosos autores que han analizado muestras de orina y cabello recogidas simultáneamente a individuos detenidos y puestos a disposición judicial [17].

El empleo de esta muestra biológica permite, además, estudiar el *modelo de consumo*, al existir la posibilidad de analizarla por segmentos, en función de la longitud total del pelo y teniendo en cuenta que el crecimiento mensual del mismo es de 1-1,5 cm/mes para toda la población. También desde el punto de vista del *control del tóxicodependiente* en

período de rehabilitación, este tipo de análisis resulta mas ventajoso que el de orina, al cubrir un período de tiempo mayor en el que se pueda demostrar el cumplimiento del contrato terapéutico del drogodependiente.

El análisis de drogas de abuso en pelo permite además controlar el consumo de drogas en mujeres embarazadas y su paso al recién nacido. Los efectos potenciales de la cocaína sobre el feto han suscitado gran preocupación debido al incremento del consumo de esta droga por la población general. Aunque no se conocen con exactitud las posibles complicaciones perinatales o malformaciones atribuidas a la cocaína, se sabe que son niños con bajo peso, tendencia a la prematuridad, disminución del perímetro craneal, etc. El hecho de que la madre consuma simultáneamente otras drogas (tabaco y alcohol) dificulta la atribución de la cocaína a la relación causa-efecto, sobre todo por la poca fiabilidad de las declaraciones de la mujer. Por ello se ha comenzado a utilizar el pelo del neonato como muestra biológica en la que es posible evidenciar una exposición intrauterina a la cocaína o a otras drogas [18].

La recogida de muestra no traumática y el hecho de que no precisa condiciones especiales de almacenamiento (Tª ambiente) ha permitido realizar estudios epidemiológicos sobre el vivo y el cadáver.

La investigación toxicológica de drogas de abuso en el cabello tiene aún ciertas LIMITACIONES a la hora de interpretar los resultados. Por ejemplo, no es conocida la correlación existente entre la cantidad de droga detectada en el pelo con la cantidad de droga consumida, por existir un gran número de variables individuales en el mismo, como por ejemplo puede ser el color y el tipo de pelo, así como la región de la que se obtiene pues el crecimiento no es homogéneo en todo el cuero cabelludo. Además, la vía de consumo y variaciones individuales de los procesos farmacocinéticos entre individuos pueden

afectar también los resultados cuantitativos obtenidos.

CONCLUSIONES:

La Toxicología Forense ha alcanzado un gran desarrollo en los últimos años. La tecnología analítica empleada es cada vez más específica y sensible, y el uso de muestras biológicas alternativas permite obtener una mayor información sobre el consumo de sustancias tóxicas y, concretamente, de drogas de abuso, tan en auge en el momento actual.

Sin embargo, la interpretación de resultados en un laboratorio forense ha de tener en cuenta una gran cantidad de variables, lo que la convierte en una tarea compleja que requiere personal especializado y el apoyo de técnicas instrumentales muy específicas. El conocimiento de las diferentes muestras biológicas y sus ventajas y características ayudará en la elección de la muestra a emplear en cada caso, según la finalidad del análisis, teniendo en cuenta que la información obtenida muchas veces no es excluyente sino complementaria.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- Perkins de Piacentino, A. M.; Locani, O. A.; Lorenzo, J. L. Drogas en pelo: sus alcances y limitaciones. Cuadernos de Medicina Forense, Año 3, nº 1 (31-41).
- 2.- Bello Gutiérrez, José, López de Cerain Salsamendi, Adela. Fundamentos de ciencia toxicológica. Editorial: Díaz de Santos. 01/03/2001. ISBN: 978-84-7978-472-0. (Madrid) ESPAÑA
- 3.- Gisbert Calabuig, J.A; Villanueva Cañadas, E. Medicina legal y toxicología, 6ª ed. Editorial Elsevier, Toxicología, Año 2004, ISBN: 978-84-458-1415-4
- 4.- María Dolores Díaz-Ambrona Bardají Introducción a la enfermería legal y forense, Año 2005, ISBN: 978-84-7978-677-9.
- 5.- Cortes Caballero, C; Ortega Moreno, H.. Tratado de medicina legal, Juristas y medicina, 3 Ed: 1996, ISBN: 958-96064-0-7.
- 6.- Repetto Jiménez, Manuel Repetto Kuhn, Guillermo. Toxicología fundamental. Editorial : Díaz de Santos. 01/01/2009. ISBN: 978-84-7978-898-8. Nº Edición : 4. ESPAÑA
- 7.- Klaassen, C; Watkins, J.B. Casarett y Doull's: Fundamentos de Toxicología. Ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2005. ISBN: 978-84-486-0534-6.
- 8.- Bermejo, AM; López de Abajo, B; Pereiro, C; Tabernero, MJ. "Investigación toxicológica en drogodependencias". Colección Drogodependencias, vol. 14, Plan Autonómico sobre drogodependencias, Consellería de Sanidade, Xunta de Galicia. (ISBN: 84-453-1044-5).
- 9.- Cámpora, P; Bermejo, AM; Tabernero, MJ and Fernández, P. "Quantitation of cocaine and its major metabolites in human saliva using GC-PCI-MS. Journal of Analytical Toxicology, July/August 2003, vol. 27.
- 10.- López, P; Bermejo, AM; Tabernero, MJ; Fernández, P; Alvarez, I. "Determination of cocaine and heroin with their respective metabolites in meconium by GC/MS". J.Appl. Toxicol. 2007; 27: 464-471.
- 11.- Ostrea, E.M.; Matias, O; Keane, C; Mac, E; Utarnachitt, R; Ostrea, A; Mazhar, M. "Spectrum of gestational exposure to illicit drugs and other xenobiotic agents in newborn infants by meconium analysis". Journal of Pediatrics - Vol. 133, Issue 4 (October 1998).
- 12.- Tabernero, MJ; Bermejo, MJ; Fernández, P. "Analysis of opiates and cocaine by RIA and GC/MS: distribution of their metabolites in urine and hair from drug addicts". Addiction Biology, 1999; 4: 421-428.
- 13.- Baumgartner, WA; Hill, VA; Bland, WH. "Hair analysis for drugs of abuse". J. Forensic Sci. (1989), 34: 1433-1453.
- 14.- Selavka, CM. "Stability of cocaine and metabolites in human hair under various storage conditions". 32th International meeting TIAFT-SOFT, Tampa (Florida), Octubre 1994.
- 15.- Joseph, R; Su, TP; Cone, EJ. "Possible ethnic bias in hair testing for cocaine". 32th International meeting TIAFT-SOFT, Tampa (Florida), Octubre 1994.
- 16.- McBay, AJ. "Hair drug testing: review and update". 29th International meeting TIAFT. Copenhagen, 29-41 (1991).
- 17.- Kintz, P; Lundes, B; Mangin, P. "Detection of drugs in human hair using Abbott ADx, with confirmation by GC/MS". J. Forensic Sci. 37, 328-331 (1992).
- 18.- Barron, WM; Lindheimer, MD. "Trastornos medicos durante el embarazo", Ed. Harcourt (Elsevier science), 3ª ed., 2001.