

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**DETERMINACIÓN DE ALCOHOL EN SANGRE
EN EL INTERVALO POSTMORTEM**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

SARA FABIOLA JIMÉNEZ AGUILAR

ASESOR DE TESIS: M. en C. ANGEL TLAPANCO OCHOA

México, D.F.

2008.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatorias

A Dios

Por permitirme seguir viva y no abandonarme en mi camino.

Por ofrecerme la maravillosa oportunidad de tener a mis padres y hermanos, y brindarles la satisfacción de que uno de los objetivos logrados ha sido gracias a su dedicación, amor y confianza.

A mi mamá

Por tu apoyo incondicional, por estar conmigo en los momentos difíciles y no dejarme caer. Gracias sin ti no lo hubiera logrado.

Agradecimientos

A mi asesor por su enseñanza y el tiempo dedicado.

Al profesor Valentín por brindarme esta oportunidad para titularme.

A mis sinodales:

Q.F.I Estela Valencia Plata

Q.F.B Francisca Robles Plata

Dr. Adelfo N. Reyes Ramírez

M. en C. Angel Tlapanco Ochoa

Q.F.B Ma. Galia Martínez Flores

Gracias por su tiempo y sugerencias.

A Silvia por su amistad y por su apoyo a lo largo de la carrera.

A Armando por su apoyo y comprensión.

Pensamiento

*El secreto del éxito es sorprendentemente
simple has más de lo que
esperan que puedas hacer.*

INDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	3
3. Planteamiento del problema.....	4
4. Importancia del problema.....	5
5. Marco teórico.....	6
Toxicocinética del etanol.....	8
Metabolismo del etanol.....	14
Alteraciones metabólicas.....	19
Bases neurofarmacológicas.....	21
Acciones farmacológicas.....	23
Obtención de la muestra.....	26
Manejo y conservación de la muestra.....	26

Métodos para la cuantificación de etanol.....	28
A. Métodos enzimáticos.....	28
B. Métodos calorimétricos.....	29
C. Métodos cromatograficos.....	29
C.1 Cromatografía de gases.....	29
C.1.1 Gas portador.....	31
C.1.2 Sistema de inyección de muestra.....	31
C.1.3 Columnas y sistemas de control de temperatura.....	33
C.1.4 Detectores.....	33
C.1.4.1 Algunos tipos de detectores.....	34
C.1.5 Columnas y tipos de fases estacionarias.....	35
C.1.5.1 Columnas de relleno.....	35
C.1.5.2 Columnas capilares.....	36
C.1.5.3 La fase estacionaria.....	37
C.2 Análisis de alcohol en sangre por cromatografía gas-liquido.....	38
D. Fotométrico.....	39
E. Electroanalítico.....	39
F. Determinación de alcohol etílico por microdifusión.....	39



6. Objetivos.....40

7. Metodología.....41

8. Resultados.....42

9. Discusión.....50

10. Conclusiones.....52

11. Referencias bibliograficas.....53

1. RESUMEN

El alcohol es una sustancia derivada de la descomposición de carbohidratos vegetales, además de que la palabra “alcohol” es de origen árabe (“ al kohl”) que significa polvillo, puesto que se pensaba que el efecto embriagante de las bebidas alcohólicas se debía a que se desprendía un polvo impalpable que ejercía su efecto por inhalación.¹

La entrada de etanol en el organismo humano en cantidades elevadas origina un desequilibrio metabólico. Además de que esta sustancia tiene ciertas cualidades físicas y biológicas que lo hacen perjudicial para el organismo.

El etanol se absorbe con rapidez en el estómago, el intestino delgado y el colon, posteriormente el etanol se distribuye con uniformidad por todos los tejidos y líquidos del cuerpo.

Del 90 al 98 % del etanol que entra al cuerpo humano es oxidado, donde el producto es el acetaldehído, se convierte después en acetil-CoA, que a continuación se oxida por medio del ciclo del ácido cítrico o se emplea en las diversas regiones anabólicas que participan en la síntesis de colesterol, ácidos grasos y otros constituyentes tisulares.²

Solamente un 10% del etanol absorbido se excreta a través del aliento, saliva, heces, orina, sudor, leche y entre otros.

Por lo que la determinación de alcohol en la sangre o alcoholemia es la más confiable. Como se sabe la alcoholemia es una función de la cantidad de alcohol absorbido por unidad de tiempo y su eliminación, pero hay que tener en cuenta que se puede ver afectada por ciertos factores como son: el contenido estomacal previo y el tipo de bebida ingerida.^{1, 2.}

La toma de muestra en cadáveres para este tipo de análisis se realiza en la vena femoral o axilar, antes de llevarse a cabo la autopsia; con la obtención de 5 mL del fluido es un volumen suficiente para el análisis.³

Dentro de la gama de métodos para la cuantificación de etanol en sangre el más utilizado es la cromatografía de gases, ya que los resultados que proporciona son más precisos y exactos.

2. INTRODUCCIÓN

El análisis de algunos fluidos del cuerpo se han vuelto un procedimiento útil para determinar ciertos tipos de sustancias que sean ajenas al organismo, provocando así la muerte o verse a la vez involucradas para causarla, por lo que es una herramienta que puede utilizarse en las determinaciones del intervalo Post-Mortem (IPM).

Por lo cual para determinar la presencia de alcohol en la sangre, es de suma importancia, ya que como se sabe al ser absorbido el etanol, la sangre es la que principalmente se encarga de distribuirla al resto del organismo; además en éste fluido no se realiza una excreción como suele suceder con algunos otros fluidos del cuerpo como son: la saliva, orina, sudor entre otros donde hay un 10% de excreción de alcohol.

Para el análisis de este tipo de muestras y que los resultados obtenidos no sean alterados a causa de alguna contaminación y/o por el estado de putrefacción es recomendable la adición de cloruro mercúrico como conservador, y algún antiséptico o inhibidor enzimático como es el fluoruro sódico.³

Con el presente trabajo se recopilaron los trabajos relacionados con la determinación de alcohol en sangre en el intervalo Post-Mortem (IPM), así como su importancia en medicina forense.

3. P L A N T E A M I E N T O D E L P R O B L E M A

El problema radica principalmente en que la mayoría de las personas de la sociedad actual tienden a ingerir alcohol para sentir una sensación de euforia o desinhibición y servirles así como un “escape” de las tensiones emocionales cotidianas a las que se encuentran expuestos. Estas sensaciones que experimentan los incita a ingerir cantidades excesivas de bebidas alcohólicas; sin saber que provoca daños irreversibles en nuestro cuerpo; donde esto es provocado principalmente por su metabolito el acetaldehído debido a que es altamente tóxico, debido a su alta reactividad química y al ser un producto energético genera una gran alteración en el equilibrio bioquímico del organismo.

Entre más se consume el alcohol dentro de nuestra sociedad mas se va perjudicando tanto la imagen cultural como la calidad de vida de los consumidores, la ingestión de bebidas alcohólicas excesiva provoca a un largo plazo daños en el cuerpo humano que en muchas ocasiones provoca la muerte; además de que en algunos casos el etanol está involucrado en accidentes de tráfico, homicidios, accidentes laborales entre otros por lo que en el campo legal es importante determinar la presencia de etanol.

El poder determinar la presencia de alcohol en sangre en IPM nos podrá dar una pauta para valorar la cantidad de alcohol en un cadáver y así ver si la causa de la muerte fue por alguna de las enfermedades que provoca el abuso de consumir etanol o en algunos delitos ver si se cometió estando en un estado alcohólico.

4. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

La estimación del intervalo Post-Mortem (IPM) es importante en la medicina forense ya que da una pauta para estimar el tiempo que la persona falleció, esto con ayuda de ciertos rasgos físicos que se pueden encontrar en el cadáver como son la temperatura corporal, la rigidez cadavérica y livideces. También se utilizan algunos métodos químicos para poder determinar ciertas sustancias en algunos fluidos del cuerpo humano.^{6,7.}

El alcohol que ha sido ingerido es absorbido en la primera media hora y el resto en las tres horas siguientes, una vez que pasa a la sangre este se difunde rápidamente a cada uno de los tejidos y órganos que conforman a nuestro cuerpo, hasta que se alcanza un equilibrio.

Desde el momento en que el alcohol llega a la sangre se inicia su distribución, solamente un 10% del etanol absorbido se excreta a través del aliento, saliva, heces, orina y sudor entre otros.

Aunque la alcoholemia se ve afectada por: el contenido estomacal previo, esto se debe principalmente a las condiciones en las que se encuentre el estómago si esta vacío, la absorción del etanol es más rápida, y por el contrario si hay presencia de alimentos en el estómago la absorción se retrasa; también influye el tipo de bebida alcohólica que fue ingerida.

Como en la sangre es donde se encuentra una mayor concentración de etanol, es la mejor opción para realizar ahí la toma de muestra y si la conservación de esta se efectúa adecuadamente se obtendrán resultados confiables.

Cuando en el cadáver existen traumatismo craneales se tiene comprobado que la sangre de hematomas subdurales, extravasados, es más útil para este tipo de análisis comparada con la toma de muestra que se obtiene de la vena femoral o axilar.³

5. MARCO TEORICO

Dentro de la medicina forense es de gran importancia la estimación del IPM, sin embargo, es muy difícil estimarlo con precisión,

Anteriormente se confiaba mucho de la valoración de los cambios físicos, como son las livideces y la rigidez cadavérica; así como los cambios de temperatura en el cuerpo y el grado de descomposición en el que se encontraba.

Aunque los cambios físicos que presenta el cadáver se ven influidos por factores externos como son: la temperatura ambiental, la humedad y otros cambios climáticos, así como la ropa que vestía. Por lo cual se han estado utilizando algunos métodos químicos para determinar ciertas sustancias en algunos fluidos que se puedan obtener del cadáver para ser analizados y así servir de herramienta para estimar la causa de muerte.

El alcohol etílico, es una sustancia derivada de la descomposición de carbohidratos vegetales, proceso que puede ser espontáneo pero que se ve acelerado por la acción catalítica de una levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, que generalmente es añadida por el hombre con el fin de obtener bebidas alcohólicas.

El etanol no es un producto normal del metabolismo humano y las cantidades mínimas que se producen en la luz intestinal proceden de la fermentación por la flora bacteriana. Por lo tanto la entrada en el organismo humano de cantidades elevadas de etanol origina un desequilibrio metabólico, puesto que el organismo debe destinar recursos para procesarlo y eliminarlo.⁸

Como sabemos el producto activo de todas las bebidas alcohólicas es el etanol. Sin embargo, el sabor y el aroma cuyo aprecio forma parte del ritual del consumo social de alcohol.

Las bebidas alcohólicas se dividen en tres grupos de acuerdo a su grado de concentración de etanol los cuales son:

- Bebidas débilmente alcohólicas. El porcentaje de etanol oscila entre el 1 y el 8%.
- Bebidas medianamente alcohólicas. El grado de etanol oscila entre el 10 y el 20%.
- Bebidas fuertemente alcohólicas. Para la obtención de estas se realiza en dos fases, donde la primera es una fermentación y después una destilación del producto fermentado, con lo que se logra un enriquecimiento de la bebida alcohólica.

La Tabla 1 muestra el porcentaje de etanol de algunas bebidas de las más consumibles por la población.

Tabla 1: Porcentaje de etanol de algunas bebidas alcohólicas

Bebida	Contenido de etanol (%)
Cerveza ligera	3.2 – 4.0
Cerveza clara	4.5
Cerveza	6.0
Cerveza de barril	6.0 – 8.0
Licor	3.2 – 7.0
Sake	14.0 - 16.0
Vino de madera	7.1 – 14.0
Vino espumoso	8.0 – 14.0
Vino tinto	14.0 – 24.0
Vino dulce	15.5 – 20.0
Brandy	40.0 – 43.0
Whisky	40.0
Vodka	40.0 – 50.0
Ginebra	40.0 – 48.5
Ron	40.0
Tequila	45.0 – 50.5

5.1 TOXICOCINÉTICA DEL ETANOL

Por su estructura química, el alcohol etílico es más hidrosoluble que liposoluble, su absorción es a través de las membranas biológicas y la difusión por la sangre se realiza rápidamente. Se absorbe fácilmente por vía intestinal e inhalatoria.⁹

La absorción que tiene por la mucosa bucal es pequeña y del estómago puede pasar directamente a la sangre (20%), la mayor absorción se produce en el intestino delgado (80%). Más de la mitad del alcohol ingerido se absorbe en la primera media hora y el resto a las tres horas siguientes. Una vez que el alcohol se encuentra en la sangre se difunde rápidamente por todos los tejidos del organismo, la absorción de etanol es en proporción al contenido de agua de cada uno de los tejidos, por lo cual las menores concentraciones de etanol se encuentran en el esqueleto, debido a su menor proporción de sangre; otro tejido con poca concentración de etanol es el tejido adiposo, porque el coeficiente de reparto del alcohol entre agua/lípido (suero/grasa) favorecen su retención por la sangre. Esta absorción se realiza por difusión pasiva, siguiendo la Ley de Fick.

El alcohol pasa a la sangre a través de la vena porta y desde ahí se incorpora a la circulación general.

Los factores que condicionan la velocidad de absorción son de dos órdenes: los que modifican la evacuación gástrica y los que modifican la velocidad de difusión, en función de la ley de Fick:^{1,2}

$$Vd = S (C_1 - C_2) K / d$$

Donde:

S es la superficie de absorción disponible

C₁ La concentración en el aparato digestivo

C₂ La concentración en la sangre

d El grosor o la densidad de la membrana

La constante K influye muy poco en esta ecuación.

El alcohol también puede penetrar por vía pulmonar y atravesar fácilmente la membrana alveolo-capilar por difusión.

Durante el periodo de distribución, hasta alcanzar el equilibrio, la concentración de alcohol es más alta en la sangre arterial que en la venosa, lo que favorece la difusión pasiva y la rápida llegada al cerebro, a causa de la gran irrigación de éste, lo que puede dar una sensación de afectación o mareo precoz. Después sigue un periodo de redistribución con paso del alcohol desde los compartimientos periféricos al central; entonces la concentración en sangre venosa puede ser mayor que en la arterial. Posteriormente se establece un equilibrio dinámico de concentraciones; todas las fases se aceleran con el ejercicio muscular y disminuyen con bajas temperaturas ambientales.

“La alcoholemia es una función de la cantidad de alcohol absorbido por unidad de tiempo y su eliminación. Por ello, es afectada por numerosos factores:”¹⁰

a) “Contenido estomacal previo:

- Si el estomago está vacío, puede producirse el fenómeno de la “sorpresa pilórica”, con rápida absorción.
- La ingestión precedente o simultánea de alimentos sólidos retrasará el vaciamiento gástrico, limitando la absorción. Algunos alimentos pueden incrementar la retención del etanol (grasas de lenta digestión).”¹⁰

b) “Bebida ingerida:

- Clase de bebida: una bebida gaseosa producirá la repleción gástrica, acelerando el vaciamiento.
- Graduación alcohólica: las bebidas de fuerte graduación proporcionarán a la sangre mayor cantidad de alcohol en menor tiempo; sin embargo, una gran cantidad de bebida suave puede dar lugar a una abundancia gástrica y rápida absorción.

Está demostrado que el paso de etanol a la sangre, desde el tracto gastrointestinal, es más rápido cuando la bebida tiene concentraciones comprendidas entre el 20 y 30% de alcohol.^{2,10}

“Bebidas más diluidas presentan bajo gradiente de concentraciones, y se absorben más lentamente. Por otra parte soluciones más concentradas hacen más lento el vaciado gástrico, paralizan la musculatura lisa y producen deshidratación y erosión de la mucosa, todo lo cual provoca una menor velocidad de absorción.”¹⁰

A parte del ya señalado efecto que tiene el alcohol sobre la mucosa gástrica y la acción que provoca sobre el vaciado gástrico, se admite un primer paso metabólico del etanol en la mucosa gástrica debido a una isoenzima de la alcoholdehidrogenasa (ADH), muy activa, mientras el alcohol se retiene en el estómago, va reducida su biodisponibilidad (fracción de la dosis que logra pasar a la sangre).

Desde un punto de vista práctico, teniendo en cuenta que de la muestra hemática se toma un cierto volumen, para hacer la determinación analítica y que el resultado de ésta es más cómodo darlo en peso de alcohol, resulta más útil expresar la alcoholemia en gramos de alcohol por 1.000 mL o litro de sangre.

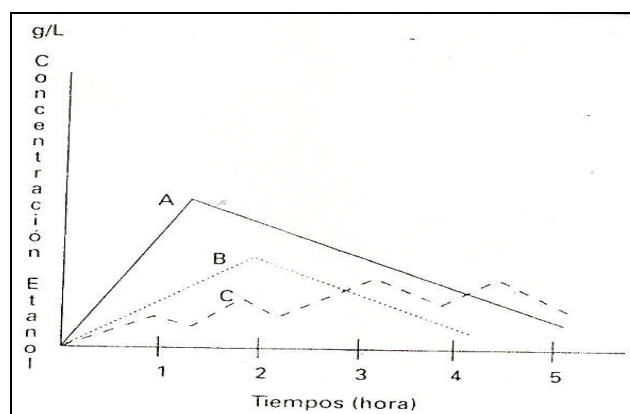


Figura 1. Evolución de la alcoholemia

Fuente: Repetto M. Toxicología Avanzada. Madrid. Ed. Díaz de Santos. 1995. pp 428-472

Si en unos ejes coordenados se representa la evolución del grado de alcoholemia frente al tiempo en sangre humana (Figura 1), considerando como origen de coordenadas el momento en que se produce la ingestión, se obtendrá una curva (A) con dos tramos, la rama ascendente representa el paso del alcohol a la sangre (fase de absorción), hasta alcanzar un máximo que se consigue entre los 30 y 90 minutos; a partir de entonces, la pendiente de la recta cambia de signo, por predominar los procesos catabólicos, es decir, el segundo tramo de la curva representa la fase de eliminación, cuya longitud es proporcional a la cantidad de alcohol ingerido, pues la velocidad de eliminación (dependiente del coeficiente de etiloxidación), es relativamente constante. La zona más alta de la curva no es un autentico pico de inflexión, sino que representa las oscilaciones que sufre la alcoholemia hasta conseguir un equilibrio en la distribución.^{3,1}

Pero cuando la ingestión de alcohol es simultanea o posterior a la de alimentos, se hace más lenta la fase de absorción (curva B), aunque la fase de eliminación se inicie en cuanto llegue el alcohol al hígado. Esto y la retención que las sustancias alimenticias, especialmente las grasas ejercen sobre el alcohol, dan como resultado una disminución del valor máximo de alcoholemia y un retraso en su aparición, lo cual disminuye los efectos fisiopatológicos.

Cuando se suceden repetidas libaciones y tomas de alimentos, la alcoholemia estará representada por una línea quebrada (curva C), con varios máximos sucesivamente más altos.

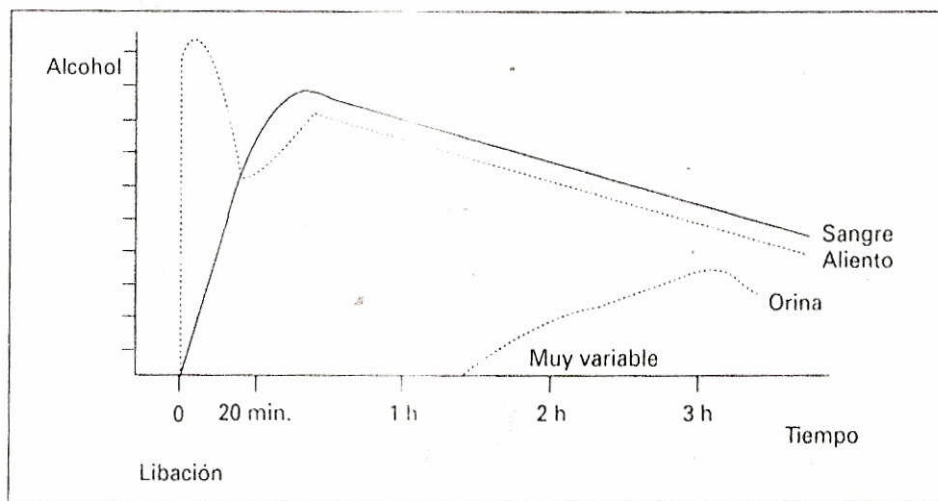


Figura 2 .Cinéticas comparativas del alcohol en sangre, aliento y orina en humanos

Fuente: Repetto M. Toxicología Avanzada. Madrid. Ed. Díaz de Santos. 1995. pp 428-472.

En la figura 2 se muestra la aparición de alcohol en el aliento donde alcanza rápidamente un máximo; transcurridos los primeros 20 minutos la curva del aliento se hace paralela a la de la sangre. Aunque al pasar el tiempo los valores son inferiores a la alcoholemia, la discordancia inicial se debe a la persistencia de restos de alcohol en la boca al momento de la determinación, y al rápido paso a los pulmones del alcohol absorbido por la mucosa bucal, vía vena cava superior y acceso directo al corazón.

En consecuencia sólo son confiables las valoraciones efectuadas después de 20 minutos de la toma de la bebida y tras enjuagado de la boca con agua; sin embargo, cuando la técnica analítica aplicada al aliento está basada en procesos de oxidación-reducción, lo cual no debe desestimarse la aparición de errores por exceso a consecuencia de la presencia de vapores reductores (otros alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, aromas, monóxido de carbono, etcétera) en el aire aspirado.

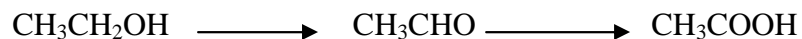
Por ello, los valores de absorción deducidos del análisis del aliento pueden tener errores que limitan la fiabilidad del método.

Por otra parte la curva de alcohol en orina transcurre muy retrasada con respecto a la de la sangre (2 horas entre los respectivos máximos), por lo que debe tenerse presente que la orina de una micción ha sido recogida en la vejiga durante un tiempo en el que la alcoholemia ha podido evolucionar grandemente, mientras que la alcoholuria en un momento dado es la concentración media de todo aquel tiempo. La valoración de alcohol en la orina presenta, por tanto, una serie de inconvenientes que deben ser considerados a priori; en primer lugar, es obvio que al llegar el alcohol a la vejiga se diluirá en la orina almacenada en ésta, por lo que la concentración en ella será inferior a la de la sangre. Sólo después de una micción se aproxima alcoholemia y alcoholuria, aunque pasado el tiempo esta última pueda superar a aquella.

Ahora bien las curvas de evolución de las concentraciones de etanol en los distintos sitios de distribución del alcohol son bastante diferentes a la curva de la alcoholemia. Dado que por vía renal se excreta menos del 5% del alcohol inalterado, y con una cinética distinta a la alcoholemia, no se considera a la orina como muestra apropiada para el análisis.³

5.2 METABOLISMO DEL ETANOL

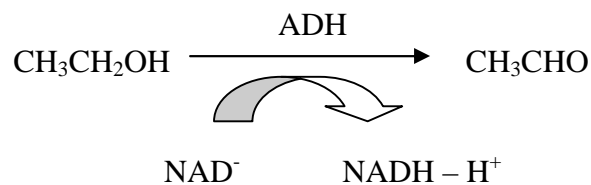
El 90% de etanol absorbido no es excretado en forma inalterada, sino que es metabolizado o biotransformado fundamentalmente en el hígado, donde es oxidado, primero a acetaldehído, después a ion acetato y finalmente a través de formación de acetil-coenzima A.



Las dos etapas del proceso son las siguientes:

Primera fase. Tiene lugar por tres vías.

1.-Vía de la enzima alcohol-deshidrogenasa (ADH). La oxidación a acetaldehído se desarrolla preferentemente en la mitocondria del hepatocito, catalizada por la ADH. En un primer paso esta enzima separa dos átomos de hidrogeno por molécula de etanol, mediante la reducción del cofactor nicotinamida adenindinucleótido (NAD).

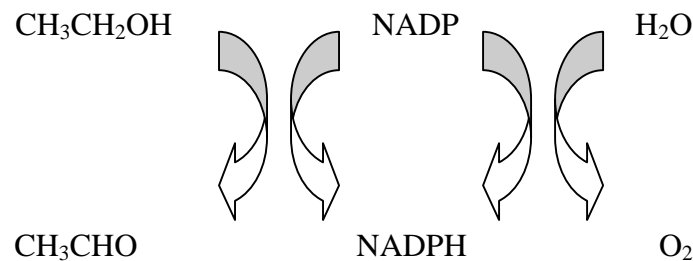


Los equivalentes reductores liberados (NADH y H⁺) son unos de los motivos del daño que aparece en el hígado del alcohólico, forzado en su neutralización. Los requerimientos de oxígeno y los cambios en el potencial redox se traducen en una hipoxia local relativa (zona perivenular) que contribuye al daño localizado.

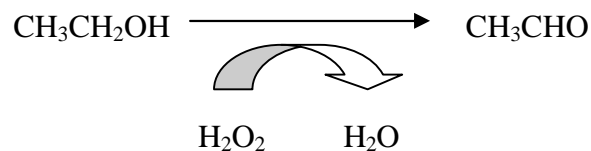
Otros tejidos, además del hígado como mucosa gastrointestinal, riñón y músculo participan minoritariamente en el metabolismo del etanol, por debajo del 20% de la dosis.

La actividad de la ADH en los testículos aumenta tras la ingestión de alcohol, lo que podría alterar los niveles de testosterona.

2.-Vía del Sistema microsómico etanol oxidante (SMEO). Cuando el consumo de etanol es reiterado o crónico, el hepatocito utiliza también microsomas del retículo endoplásmico, normalmente empleados para catabolizar xenobióticos ; en nuestro caso interviene el denominado sistema micrósomico etanol oxidante (SMEO) integrado por las oxidasas de función mixta (MFO), que utiliza como cofactor el fosfato de nicotinamida adenin-dinucleótido (NADP), con participación del citocromo P-450, concretamente en su isoforma P-450.2E1, cuya síntesis es inducible por el propio alcohol.^{1,2,3}



3.-Vía de las catalasas. Por otra parte, las catalasas, contenidas en los peroxisomas actúan como unas enzimas alcoholdehidrogenasas inespecíficas, pues también oxidan a otras sustancias, en un mecanismo defensivo destructor de agua oxigenada producida en diferentes procesos bioquímicos.



Segunda fase El acetaldehído formado como primer metabolito, puede catabolizarse según dos caminos:

- a) **Vía principal.** Oxidación del acetaldehído a acetato, mediante dos tipos de enzimas deshidrogenadas (acetaldehidodeshidrogenasa, ALDH) y oxidasas:

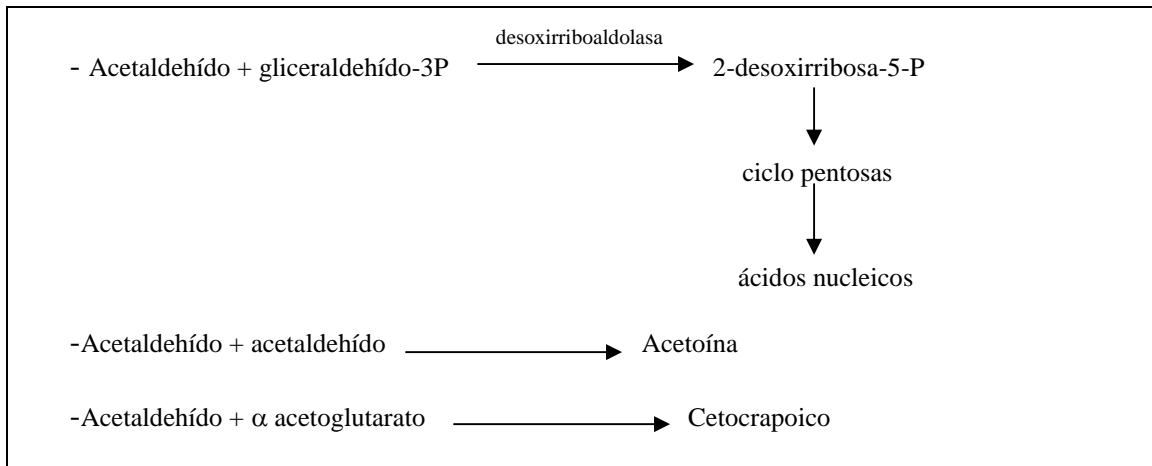


Las deshidrogenadas son bastante inespecíficas; se localizan en citoplasma, mitocondria, microsomas, etc. Son NAD-dependientes.

Las oxidasas (xantinoxidasa, aldehidohidroxidasa), con FAD, Fe, Mo, coenzima Q, etc, son formadores de agua oxigenada.

El acetato formado, igual que el Ac. CoA, conducen, por el ciclo de Krebs, a CO₂ o bien participan en la síntesis de ácidos grasos, de esteroides o de cuerpos cetónicos.

b) **Vía de las liasas.** Las liasas condensan el acetaldehído con otros productos, originando diferentes catabolitos. Como por ejemplo:



Algo de acetaldehído procedente de la dieta o de biotransformaciones puede ser reducido a etanol (alcohol endógeno) por intervención de la ADH . Este etanol endógeno se manifiesta en una alcoholemia del orden de 0.03g/L.

El primer y principal metabolito del etanol, el acetaldehído, juega un papel muy importante en la toxicología del alcohol, por su acción citotóxica directa y sus efectos sobre el aparato circulatorio, lentitud de eliminación y derivado catabólicos, de farmacodinamia propia.

El acetaldehído es más reactivo que el alcohol, y se une a proteínas tisulares y plasmáticas, cuyos aductos pueden ser determinados; la formación de aductos con glutatión (GSH) y con S-adenosilmetionina (SAM) conduce a la depleción de éstos, lo que favorece la aparición de radicales libres y el desarrollo de peroxidación lipídica, con lesiones mitocondriales.

En la intoxicación experimental de ratas con etanol, se ha visto que el glutatión reducido (GSH) mitocondrial disminuye un 40% (Masini *et al.*, 1994) lo que permite la formación de hidroperóxidos de ácidos grasos y alteración de la permeabilidad en la membrana interna de las mitocondrias.

Como se sabe, compuestos azufrados, como el disulfirán y los tiocarbamatos interrumpen este proceso, posiblemente por competir con la NAD por la ALDH necesaria para la acción enzimática de la segunda fase. Se inhibe así el catabolismo del acetaldehído, cuya acumulación conduce a altos niveles en sangre que son los responsables de las alteraciones circulatorias (vasodilatación, enrojecimiento, calor, cefalalgia, etc.) que experimentan los individuos que hacen una simultación en la absorción de estos productos con el alcohol, reacciones que han sido utilizadas con fines de deshabitación alcohólica, a pesar de la toxicidad del acetaldehído y del disulfirán.

El disulfirán se biotransforma en hígado y eritrocitos a dietilditiocarbamato que al complejar al cobre de que depende la enzima dopamina-hidroxilasa, inhibe la transformación de dopamina en noradrenalina, causando hipotensión. También se metaboliza a sulfuro de carbono que reacciona con el fosfato de piridoxal.

Entre las acciones del acetaldehído, debe citarse que separa el fosfato de piridoxal (Vit. B) de su proteína transportadora, lo que contribuye a la degradación de la vitamina; esto se suma al consumo de vitamina B₁ en el metabolismo etanólico, y una disminución de la absorción de B₁₂. El déficit de B₆ reduce el ácido gamma-aminobutírico cerebral, lo que favorece los temblores y convulsiones. También el aldehído acético se conjuga con proteínas séricas, lo que se hace responsable del déficit de inmunoglobulinas.

Los síntomas mencionados anteriormente, junto con la deshidratación, hipoglucemia, hipovitaminosis B, constituyen la típica “resaca” o malestar del día siguiente, que es mayor con los vinos con alto contenido en aldehídos y acetilos.^{3,4}

La cinética del etanol en sangre ha sido muy estudiada; ya Widmark estableció en 1932 que la pendiente de la rama descendente de la curva de alcoholemia (Figura 3) o proporción a que disminuye ésta, es decir, la velocidad con que se metaboliza el alcohol, es del orden de 0.15 gramos de alcohol por litro de sangre y hora.

La eliminación del etanol, a partir del máximo, sigue una cinética pseudolineal, descrita por una ecuación del orden cero, lineal: $C_t = C_m - Kt$, para alcoholemias altas, por saturación del sistema ADH-NAD; y para alcoholemias bajas por un proceso exponencial, con la cinética de Michaelis-Menten: $-dC/dt = V_{m\acute{a}x}C / Km + C$.

Donde:

C_t = la alcoholemia al tiempo t

C_m = la alcoholemia máxima

K = la constante de eliminación

Km = la constante de Michaelis-Menten y oscila entre 2 y 24 mM.

$V_{m\acute{a}x}$ = la velocidad máxima

Cuando se aplica la ecuación de Michaelis, puede obtenerse un valor medio de la velocidad máxima de disminución, del orden de 0.15 g/L/h, aunque algunos autores como Perder (1993) proponen una tasa máxima de 0.3 g/L/h, para alcoholemias de hasta 3g/L. Este valor ha sido denominado coeficiente beta de etiloxidación y representa la pendiente de la curva de eliminación, o cociente entre el decremento de la concentración en sangre y el incremento del tiempo ($\beta = \Delta c / \Delta t$). [Figura 3]

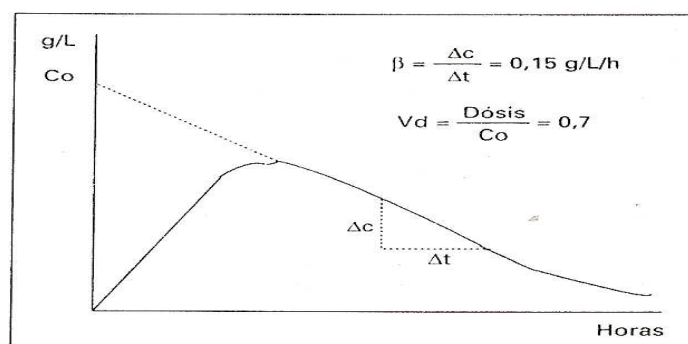


Figura 3. Distribución y metabolismo del etanol

Fuente: Repetto M. Toxicología Avanzada. Madrid. Ed. Díaz de Santos. 1995. pp 428-472

Por lo que un adulto normal es capaz de metabolizar entre 8 -12 g de etanol a la hora.

5.3 ALTERACIONES METABÓLICAS

El alcohol debe ser metabolizado en el organismo utilizando una maquinaria enzimática que debe abandonar sus funciones fisiológicas y que además puede resultar dañada en el proceso por el propio etanol y por sus metabolitos tóxicos, especialmente el acetaldehído. Todo ello puede dar lugar a diversos desequilibrios metabólicos.

Hidratos de carbono.

Es frecuente que exista una disminución de los depósitos de glucógeno, con riesgo de hipoglucemia. El mecanismo es el desplazamiento hacia el componente reducido del par NAD/NADH, que reduce las concentraciones de piruvato y oxalacetato y como consecuencia directa las de fosfoenolpiruvato, elemento fundamental para la neoglucogénesis.

La cetoacidosis alcohólica, menos frecuente, se debe a la producción excesiva de cuerpos cetónicos, suele aparecer después de un periodo de abuso masivo y prolongado con escaso aporte alimenticio. El hígado incrementa la producción de energía a expensas de los ácidos grasos y genera gran cantidad de cetoácidos (betahidroxibutírico y acetoacetato), que son utilizados por los tejidos periféricos o eliminados por la orina. El único cetoácido que puede entrar en la cadena de producción de acetilCoA es el acetoacetato.

Los alcohólicos crónicos pueden presentar también una acidosis láctica, debida al desplazamiento hacia la forma reducida del par NAD/NADH favorece la acumulación de lactato en la producción de piruvato.

Proteínas

El etanol interfiere en la síntesis de diversas proteínas, sobre todo en el hígado y el tejido muscular, y especialmente la polimerización de la tubulina, que es el elemento estructural del citoesqueleto y del sistema de exportación de las proteínas fuera de las células que las sintetizan. El trastorno proteico del alcohólico depende, sobre todo, de la malnutrición y de la afectación hepática asociadas.

Lípidos

La hipertrigliceridemia es frecuente en los alcohólicos crónicos, ya que pese a todas las alteraciones del metabolismo de carbohidratos, al final aumenta la síntesis de AcetilCoA, que además se desvía del ciclo de Krebs para entrar preferentemente en la vía de la síntesis de ácidos grasos.

Metabolismo hidroelectrolítico

Forma parte de la experiencia colectiva el hecho de que el consumo ocasional de alcohol incrementa la diuresis de forma transitoria. La causa es un aumento de la diuresis de agua libre con preservación de electrolitos consecuencia de la inhibición de la secreción de la hormona antidiurética (ADH) por efecto directo del alcohol. Sin embargo, cuando la alcoholemia se mantiene estable, el etanol se comporta como un antidiurético y retiene agua y electrolitos y los incrementos transitorios de la concentración sanguínea de alcohol van perdiendo su eficiencia diurética. Por tanto, el consumo mantenido de etanol produce retención isoosmótica de agua y electrolitos, efecto que se difumina cuando se suspende el consumo de alcohol, dando lugar a un incremento de la eliminación renal de agua y electrolitos.

El alcohol también inhibe la reabsorción renal de magnesio, hay pérdidas urinarias de zinc.^{3, 12,13}

5.4 BASES NEUROFARMACOLÓGICAS

El alcohol afecta específica y selectivamente la función de ciertas proteínas de membrana, entre las que se encuentran los canales de iones dependientes de receptor ácido gamma-aminobutírico (GABA) y N-Metil-D-aspartato (NMDA) son los más sensibles a la acción del etanol.

El etanol favorece la entrada de cloro por estímulo del receptor GABA, pero no todos los receptores GABA-A son sensibles al etanol ya que existe gran diversidad de subunidades que componen este receptor. Esta acción explica la tolerancia cruzada que presenta el alcohol con otros depresores que actúan en el mismo complejo macromolecular de GABA-Canal de cloro, las benzodiazepinas y los barbitúricos.

El etanol actúa como inhibidor del receptor NMDA y reduce, por tanto, la actividad glutaminérgica. Sin embargo cuando el consumo de alcohol es crónico, el organismo se adapta disminuyendo la actividad glutaminérgico.

Tras la ingesta de etanol, la liberación de dopamina está aumentada en algunas zonas del SNC y especialmente en el núcleo *accumbens*, y la ingesta crónica produce una reducción en la liberación de este neurotransmisor y una hipersensibilidad de los receptores dopaminérgicos.

Igualmente, el consumo de etanol produce un aumento de la liberación de serotonina e incluso tras el consumo crónico se produce tolerancia a este efecto, de hecho se describe que los alcohólicos presentan unas cifras bajas de metabolitos de serotonina en el líquido cefalorraquídeo.

La administración de fármacos con actividad dopaminérgica o serotoninérgica disminuye el consumo de etanol.

El sistema opioide también está relacionado y de hecho se sabe que las endorfinas intervienen en la motivación a la ingesta de alcohol. El consumo de alcohol estimula los receptores opioides (especialmente el receptor δ) y aumenta la liberación de endorfinas, desencadenando una sensación de bienestar y un reforzamiento positivo que estimula al paciente a seguir bebiendo.

La disfunción de los receptores opioides podría formar parte de las bases biológicas del ansia del alcohol y de las recaídas que se observan.^{12, 13, 14}

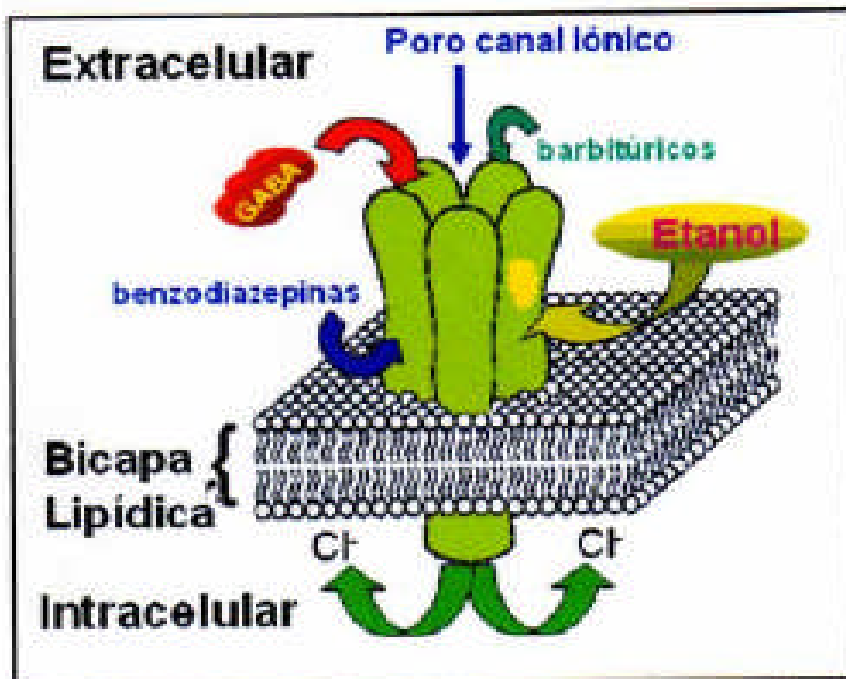


Figura 4. Activación de proteínas de membranas por etanol
Fuente: Flores J. Farmacología humana. 2ª edición. Ed. Científicas y Técnicas S.A. Barcelona.1992.

5.5 ACCIONES FARMACOLÓGICAS

Sistema Nervioso Central (SNC). El etanol produce depresión no selectiva y presenta tolerancia cruzada con otros depresores. En una primera etapa se produce lo siguiente:

- Un cuadro de pseudoexcitación
- Aumento del tiempo de respuesta.
- Aumento de la sociabilidad
- Incoordinación muscular
- Alteraciones de la visión.
- Excitación psicomotriz
- Depresión

Lo mencionado anteriormente va en función de la dosis. Posteriormente deprime el centro respiratorio y vasomotor. Inhibe la liberación de alcohol-deshidrogenasa (ADH) y produce una disminución de la temperatura.

A medida que se incrementa la ingesta de alcohol etílico aumenta la alcoholemia, generalizando la depresión central disminuyendo aún más la capacidad ideática y asociativa, torpeza, pérdida de reflejos, estupor y sueño. Concentraciones más elevadas provocan coma, depresión bulbar y muerte. La correlación de ambos parámetros como se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Correlación de la concentración sanguínea de alcohol y sus efectos en el SNC

Whisky (ml)	Conc.en sangre (mg/100ml)/ (% etanol)	Efecto	Parte del SNC deprimida
30-60	10-50 / 0.01 – 0.05	Ninguna o ligera euforia	Lóbulo frontal
90-120	50-100 / 0.05 – 0.1	Influencia leve sobre la visión estereoscópica y la adaptación a la oscuridad.	Lóbulo frontal
120-180	100 / 0.1	Ligeramente intoxicado	Lóbulo frontal
120-180	100-150 / 0.1 – 0.15	Euforia: desaparición de la inhibición; mayor tiempo de reacción.	Lóbulo parietal
180-210	150-200 / 0.15 – 0.2	Intoxicación moderada; tiempo de reacción muy prolongado; pérdida de inhibición, perturbación del equilibrio y coordinación.	Lóbulo parietal
240-270	200-250 / 0.2 – 0.25	Grado intenso de intoxicación; perturbación del equilibrio y coordinación; retardo de procesos químicos y obnubilación de la conciencia.	Lóbulo occipital, cerebelo y diencefalo
300-450	250-400 / 0.25 – 0.4	Coma profundo y muerte.	Médula

Cuando se califica a un individuo como ebrio; se basa principalmente en dos parámetros que son: la determinación de la concentración de alcohol en la sangre (con un valor mayor de 80 mg/dL se considera estado de ebriedad) y la valoración clínica del efecto farmacológico manifestado.

Sistema nervioso periférico. Se comporta como un anestésico local irreversible cuando se inyecta en un tronco nervioso.

Aparato cardiovascular. El etanol produce de forma refleja un aumento de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial. El alcohol es vasodilatador por la liberación de histamina que produce.

Con la vasodilatación periférica aumenta la pérdida de calor y disminuye la temperatura corporal.

A grandes concentraciones de etanol produce una disminución de la contractibilidad cardíaca, lo que contribuye a producir una cardiopatía con disminución de la función hemodinámica en el alcoholismo crónico. A nivel central deprime el centro vasomotor.

La vasodilatación coronaria es muy discutida y la mejoría que experimentan algunos pacientes se debe más al efecto analgésico y euforizante del alcohol que a una verdadera vasodilatación coronaria.

Aparato respiratorio. A dosis moderadas produce un estímulo reflejo del centro respiratorio, pero según se aumenta la dosis se produce una depresión central.

Aparato digestivo. La ingestión de alcohol produce un aumento en la secreción de ácido clorhídrico y de gastrina. El etanol provoca un estímulo de la adenilciclase con un aumento de los niveles de 3.5 AMPc, incrementándose la secreción de bicarbonato, agua y sodio en la luz intestinal.

El etanol a concentraciones superiores al 15% produce irritación e inflamación del estómago e intestino, por lo que su repetida presencia puede producir trastornos irritativos y a defectuosa absorción de las sustancias nutritivas (sobre todo ácido fólico y vitaminas como B₁ y B₁₂), con posibilidad de originar mal nutrición.

Médula ósea. Provoca anemia macrocítica.

Músculo. Produce alteraciones estructurales de la fibra muscular que conllevan a una miopatía.

Hígado. Provoca inhibición de glicogénesis, aumento de síntesis de triglicéridos, disminución de la actividad del ciclo de Krebs y reducción de la oxidación de ácidos grasos.

Riñón. Disminuye la secreción de la hormona antidiurética (vasopresina) por el lóbulo posterior de la hipófisis (sistema hipotálamo-hipófisis), también se reduce la resorción de agua produciendo diuresis.

Aparato genital y otros. Es clásica la afirmación de que el etanol aumenta el libido en el varón pero disminuye la potencia sexual. Además produce atrofia testicular. A nivel del útero a dosis altas produce relajación.^{12,13,14}

5.6 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA:

La toma de muestra en cadáveres debe hacerse de la vena femoral o axilar, antes de comenzar la autopsia, o bien de las cavidades cardíacas, se ha comprobado que la varianza en las alcoholemias realizadas con sangre femoral y cardíaca es menor de 0.05%. Sin embargo la sangre tomada de cavidad torácica, mezclada con fluido pericárdico o pleural, posee alcoholemias elevadas (alrededor del 20%) a causa de difusión postmortem, y no es apta para el análisis.^{1,2}

5.7 MANEJO Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Se ha recomendado el cloruro mercuríco como el mejor conservador para sangre de cadáveres (Bradford, 1966).

Se ha dedicado gran atención al conocimiento de la estabilidad del etanol en muestras almacenadas. Los trabajos de Brown y Smalldon (1973) confirman que los principales factores que afectan a los valores de alcohol a través del tiempo de conservación son la temperatura y la presencia de agentes conservadores. En estado de congelación las variaciones son mínimas.³

“Se han sugerido tres mecanismos de disminución de la alcoholemia:”¹

- a) Pérdidas de difusión a la cámara de aire que pueda existir entre la sangre y el tapón del frasco contenedor; cuanto mayor sea la cámara, mayor será la pérdida, por lo que se recomienda que la sangre llene totalmente el recipiente; cuando el cierre no es hermético, por mal ajuste del tapón o cierre permeable (tapones de algodón), etc., la pérdida es mayor.

- b) Oxidación del alcohol a ácido acético por el aire o por el oxígeno de la oxihemoglobina.

- c) Metabolismo del etanol por microorganismos presentes en la sangre.

Por otra parte, hidratos de carbono de la sangre pueden ser fermentados por bacterias y levaduras incrementando la concentración de etanol en proporciones de hasta 0.05g/L. Las dos últimas alteraciones citadas se evitan con la adición de un antiséptico o inhibidor enzimático como el fluoruro sódico.

5.8 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ETANOL

Para la cuantificación de alcohol etílico las reacciones que se utilizan se basan principalmente en la oxidación del grupo funcional a su correspondiente aldehído. Esta oxidación puede ser de manera enzimática y/o química, y por lo tanto la formación del producto de oxidación puede ser utilizada como una medida directa de la cantidad de alcohol etílico que se encuentra en la muestra.

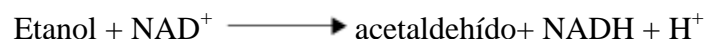
Estas son algunos de los métodos que se utilizan para la determinación de alcohol etílico:

A. Métodos Enzimáticos

Se basan principalmente en la reacción específica de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH), con alcoholes de cadena corta (metanol, etanol y propanol). Esta reacción es dependiente de la coenzima NAD^+ y la cuantificación se realiza espectrofotométricamente.

Fundamento

El etanol es oxidado a acetaldehído en presencia de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) por nicotinamida / adenina dinucleótido (NAD).



El acetaldehído es oxidado en presencia de aldehído deshidrogenasa (AIDH) cuantitativamente a ácido acético.



NADH es determinado por la medida de su absorbancia a 340 ó 345 nm.

B. Métodos Colorimétricos

Estos métodos se basan en la oxidación del alcohol que se encuentra en la muestra y la determinación se realiza indirectamente al cuantificar la cantidad de ion reducido que se está formando mediante la utilización de un espectrofotómetro UV-VIS o un colorímetro a la longitud de onda correspondiente al color que se está formando. Existen tres reacciones que se aplican para la determinación de alcohol etílico:

- 1) Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) amarillo + H_2SO_4 produce sulfato de cromo verde
- 2) Permanganato de potasio $KMnO_4$ (morado) + H^+ produce ion magnesio (Mg^{2+})
- 3) Pentóxido de yodo (incolore) \longrightarrow yodo (I_2) produce color azul con almidón.

C. Métodos Cromatográficos

La cromatografía es una técnica analítica en la cual los componentes son separados en una fase estacionaria por efecto de una fase móvil.

C.1 Cromatografía de gases

La **cromatografía de gases** es una técnica en la cual la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte.

A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC): la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (GC).

En la GSC la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular.

Mientras que la GLC utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte.

La GC se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases. Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector. Como se muestra en el siguiente diagrama:

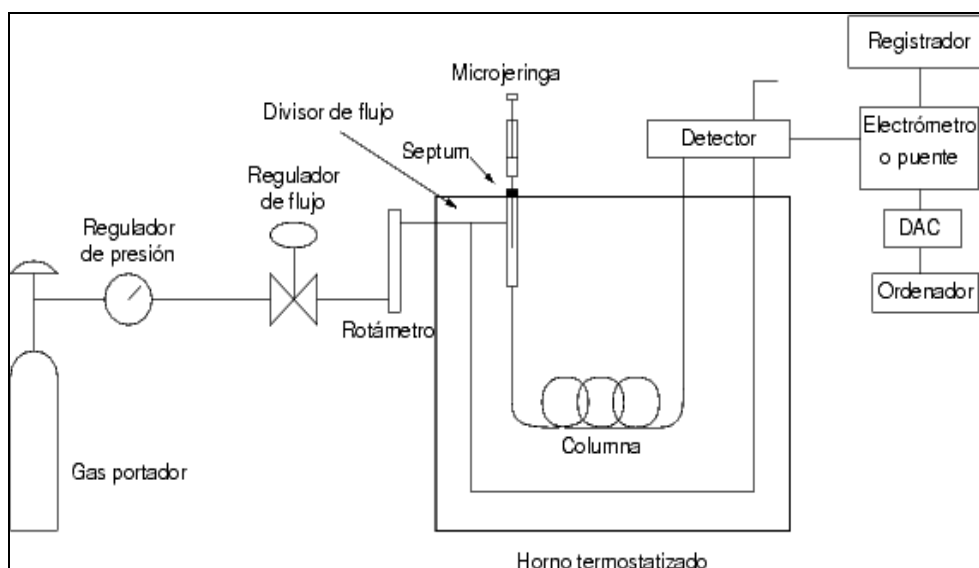


Figura 5. Esquema de un cromatógrafo de gases

Fuente: Skoog, Douglas A. y Leary, James J. *Análisis Instrumental*, Madrid: (1994), McGraw-Hill..

C.1.1 Gas portador

El gas portador debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, y la elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado. El almacenaje del gas puede ser en balas normales o empleando un generador, especialmente en el caso del nitrógeno y del hidrógeno. Luego tenemos un sistema de manómetros y reguladores de flujo para garantizar un flujo estable y un sistema de deshidratación del gas, como puede ser un tamiz molecular.

Generalmente la regulación de la presión se hace a dos niveles: un primer manómetro se sitúa a la salida de la bala o generador del gas y el otro a la entrada del cromatógrafo, donde se regula el flujo. Las presiones de entrada varían entre 10 y 25 psi, lo que da lugar a caudales de 25 a 150 mL/min en columnas de relleno y de 1 a 25 mL/min en columnas capilares. Para comprobar el caudal se puede utilizar un rotámetro o un simple medidor de pompas de jabón, el cual da una medida muy exacta del caudal volumétrico que entra a la columna.

C.1.2 Sistema de inyección de muestra

La inyección de muestra es un apartado crítico, ya que se debe inyectar una cantidad adecuada, y debe introducirse de tal forma (como un "tapón de vapor") que sea rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida; este efecto se da con cantidades elevadas de analito. El método más utilizado emplea una microjeringa (de capacidades de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea. Esta cámara está a 50°C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil, y está sellada por una junta de goma de silicona septa o *septum*.

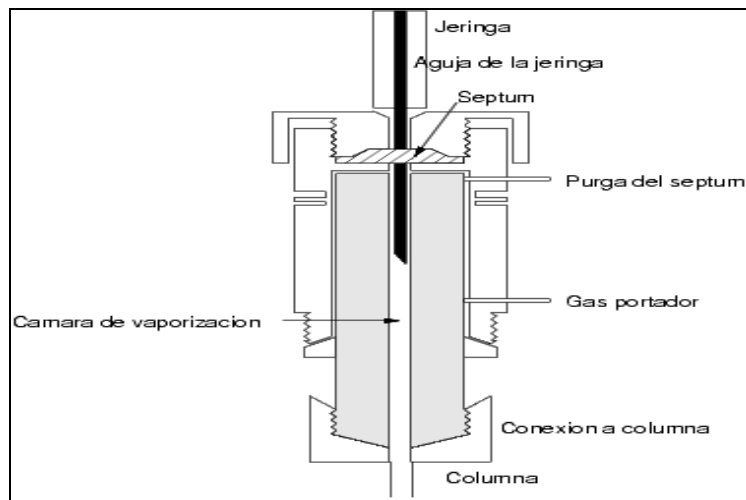


Figura 6. Inyector de muestra para un GC

Fuente: Skoog, Douglas A. y Leary, James J. *Análisis Instrumental*, Madrid: (1994), McGraw-Hill..

Si es necesaria una reproducibilidad del tamaño de muestra inyectado se puede usar una válvula de seis vías o válvula de inyección, donde la cantidad a inyectar es constante y determinada por el tamaño del bucle de dicha válvula.

Si la columna empleada es ordinaria, el volumen a inyectar será de unos 20 μL , y en el caso de las columnas capilares dicha cantidad es menor, de 10^{-3} μL . Para obtener estas cantidades, se utiliza un divisor de flujo a la entrada de la columna que desecha parte del analito introducido.

En caso de muestras sólidas, simplemente se introducen en forma de disolución, ya que en la cámara de vaporización instantánea el disolvente se pierde en la corriente de purga y no interfiere en la elución.

Según las curvas de Van Demter (HEPT vs. Velocidad Lineal), el mejor gas a usar en la columna cromatográfica como portador de los analitos es el hidrógeno, sin embargo dada su peligrosidad, es más usado como gas de encendido en el detector FID, junto con el aire.

C.1.3 Columnas y sistemas de control de temperatura

En GC se emplean dos tipos de columnas: las *empaquetadas* o *de relleno* y las *tubulares abiertas* o *capilares*. Estas últimas son más comunes en la actualidad (2005) debido a su mayor rapidez y eficiencia. La longitud de estas columnas es variable, de 2 a 50 metros, y están construidas en acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón. Debido a su longitud y a la necesidad de ser introducidas en un horno, las columnas suelen enrollarse en una forma helicoidal con diámetros de 10 a 30 cm, dependiendo del tamaño del horno.

La temperatura es una variable importante, ya que de ella va a depender el grado de separación de los diferentes analitos. Para ello, debe ajustarse con una precisión de décimas de grado. Dicha temperatura depende del punto de ebullición del analito o analitos, y por lo general se ajusta a un valor igual o ligeramente superior a él. Para estos valores, el tiempo de elución va a oscilar entre 2 y 30-40 minutos. Si tenemos varios componentes con diferentes puntos de ebullición, se ajusta la llamada **rampa de temperatura** con lo cual ésta va aumentando ya sea de forma continua o por etapas.

En muchas ocasiones, el ajustar correctamente la rampa puede significar separar bien o no los diferentes analitos. Es recomendable utilizar temperaturas bajas para la elución, pero conforme la temperatura es mayor la elución es más rápida, pero corriendo el riesgo de descomponer el analito.

C.1.4 Detectores

El detector es la parte del cromatógrafo que se encarga de determinar cuándo ha salido el analito por el final de la columna. Las características de un detector ideal son:

- **Sensibilidad:** Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10^{-8} y 10^{-15} g/s de analito.
- **Respuesta lineal al analito** con un rango de varios órdenes de magnitud.
- **Tiempo de respuesta corto**, independiente del caudal de salida.

-
- **Intervalo de temperatura de trabajo amplio**, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400°C, temperaturas típicas trabajo.
 - **No debe destruir la muestra.**
 - **Estabilidad y reproducibilidad**, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales.
 - **Alta fiabilidad y manejo sencillo**, o a prueba de operadores inexpertos.
 - **Respuesta semejante para todos los analitos**, o
 - **Respuesta selectiva y altamente predecible** para un reducido número de analitos.

C.1.4.1 Algunos tipos de detectores:

- Detector de ionización de llama (FID, Flame Ionization Detector).
- Detector de conductividad térmica (TCD, Thermal Conductivity Detector).
- Detector termoiónico (TID, ThermoIonic Detector).
- Detector de captura de electrones (ECD, Electron-Capture Detector).
- Detector de emisión atómica (AED, Atomic Emission Detector).

Otros detectores minoritarios son el *detector fotométrico de llama* (PFD), empleado en compuestos como pesticidas e hidrocarburos que contengan fósforo o azufre. En este detector se hace pasar el gas eluido por una llama hidrógeno/oxígeno donde parte del fósforo se convierte en una especie HPO, la cual emite a $\lambda = 510$ y 526 nm, y simultáneamente el azufre se convierte en S₂, con emisión a $\lambda = 394$ nm. Dicha radiación emitida se detecta con un fotómetro adecuado. Se han podido detectar otros elementos, como algunos halógenos, nitrógeno, estaño, germanio y otros.

En el *detector de fotoionización* (PID), el gas eluido al final de la columna se somete a una radiación ultravioleta con energías entre 8,3 y 11,7 eV, correspondiente a una $\lambda = 106$ -149 nm. Mediante la aplicación de un potencial a la celda de ionización se genera una corriente de iones, la cual es amplificada y registrada.

C.1.5 Columnas y tipos de Fases Estacionarias

C.1.5.1 Columnas de relleno

Las columnas de relleno o empacadas consisten en unos tubos de vidrio, metal (inerte a ser posible como el acero inoxidable, níquel, cobre o aluminio) o teflón, de longitud de 2 a 3 metros y un diámetro interno de unos pocos milímetros, típicamente de 2 a 4. El interior se rellena con un material sólido, finamente dividido para tener una máxima superficie de interacción y recubierto con una capa de espesores entre 50 nm y 1 μm . Para que puedan introducirse en el horno, se enrollan convenientemente.

El material de relleno ideal consiste en pequeñas partículas, esféricas y uniformes, con una buena resistencia mecánica, para tener una máxima superficie donde interaccionar la fase estacionaria y el analito. La superficie específica mínima ha de ser de 1 m^2/g . Como todos los componentes de columnas para GC, debe ser inerte a altas temperaturas ($\sim 400^\circ\text{C}$) y humectarse uniformemente con la fase líquida estacionaria durante el proceso de fabricación. El material preferido actualmente (2005) es la tierra de diatomeas natural, debido a su tamaño de poro natural. Estas especies, ya extinguidas, utilizaban un sistema de difusión molecular para tomar nutrientes del medio y expulsar sus residuos. Por tanto, debido a que el sistema de adsorción superficial del analito y la fase estacionaria es parecido, son materiales especialmente útiles.

El tamaño es crítico a la hora de darse el proceso de interacción del analito, y a menores tamaños la eficacia de la columna es mejor. Pero existe el problema de la presión necesaria para hacer circular un caudal estable de gas portador por la columna, ya que dicha presión es inversamente proporcional al cuadrado del diámetro de dichas partículas. Así, el tamaño mínimo para usar presiones máximas de 50 psi es de 250 a 149 μm .

C.1.5.2 Columnas capilares

Las columnas capilares son de dos tipos básicos: las de pared recubierta (WCOT) y las de soporte recubierto (SCOT). Las WCOT son simplemente tubos capilares donde la pared interna se ha recubierto con una finísima capa de fase estacionaria. Las columnas SCOT tienen en su parte interna una fina capa de material adsorbente como el empleado en las columnas de relleno (tierra de diatomeas) donde se ha adherido la fase estacionaria. Las ventajas de las SCOT frente a las WCOT es la mayor capacidad de carga de esta última, ya que en su fabricación se emplean mayores cantidades de fase estacionaria, al ser la superficie de intercambio mayor. Por orden de eficacia, en primer lugar están las WCOT, luego las SCOT y por último las columnas de relleno.

Las columnas WCOT se fabrican a partir de sílice fundida, conocidas como *columnas tubulares abiertas de sílice fundida* o FSOT. Estas columnas se fabrican a partir de sílice especialmente pura, sin apenas contenido de óxidos metálicos. Debido a la fragilidad inherente a este material, en el mismo proceso de obtención del tubo se recubre con una capa de poliimida, de esta forma la columna puede enrollarse con un diámetro de unos pocos centímetros. Estas columnas, con propiedades como baja reactividad, resistencia física y flexibilidad, han sustituido a las WCOT clásicas.

Las columnas FSOT tienen diámetros internos variables, entre 250 y 320 μm (para columnas normales) y 150-200 μm para columnas de alta resolución. Estas últimas requieren menor cantidad de analito y un detector más sensible, al eluir menor cantidad de gas. Existen asimismo columnas *macrocapilares* con diámetros de hasta 530 μm , que admiten cantidades de analito comparables a las de relleno pero con mejores prestaciones.

En estas columnas existe un problema debido a la adsorción del analito sobre la superficie de la sílice fundida, adsorción debida a la presencia de grupos silanol (Si-OH), los cuales interaccionan fuertemente con moléculas polares orgánicas. Este inconveniente se suele solventar inactivando la superficie por sililación con dimetilclorosilano (DMCS). La adsorción debida a los óxidos metálicos se ve paliada en gran parte por la elevada pureza de la sílice empleada.

C.1.5.3 La fase estacionaria

Las propiedades necesarias para una fase estacionaria líquida inmovilizada son:

1. Características de reparto (factor de capacidad κ' y factor de selectividad α) adecuados al analito.
2. Baja volatilidad, el punto de ebullición de la fase estacionaria debe ser al menos 100°C mayor que la máxima temperatura alcanzada en el horno.
3. Baja reactividad.
4. Estabilidad térmica, para evitar su descomposición durante la elución.

Existen como mucho una docena de disolventes con estas características. Para elegir uno, debe tenerse en cuenta la polaridad del analito, ya que a mayor polaridad del analito, mayor polaridad deberá tener la fase estacionaria. Algunas fases estacionarias utilizadas actualmente (2005) son:

- **Polidimetilsiloxano**, fase no polar de uso general para hidrocarburos, aromáticos, polinucleares, drogas, esteroides y PCBs.
- **Poli(fenilmetildifenil)siloxano** (10% fenilo), para ésteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides, drogas y compuestos halogenados.
- **Poli(fenilmetil)siloxano** (50% fenilo), para drogas, esteroides, pesticidas y glicoles.
- **Poli(trifluoropropildimetil)siloxano**, para aromáticos clorados, nitroaromáticos, bencenos alquilsustituídos.
- **Poli(etilenglicol)**, sirve para compuestos polares, también para compuestos como glicoles, alcoholes, éteres, aceites esenciales.
- **Poli(dicianoalildimetil)siloxano**, para ácidos grasos poliinsaturados, ácidos libres y alcoholes.

Generalmente, en columnas comerciales, la fase estacionaria se presenta enlazada y entrecruzada para impedir su pérdida durante las operaciones de elución o lavado. De esta forma se obtiene una monocapa adherida químicamente a la superficie de la columna.

La reacción implicada suele ser la adición de un peróxido al líquido a fijar, iniciándose una reacción por radicales libres que tiene como resultado la formación de un enlace carbono-carbono que además incrementa su estabilidad térmica. Otra forma es la irradiación con rayos gamma. Otro tipo de fase estacionaria son las quirales, lo cual permite resolver mezclas enantioméricas. Este tipo de fases suelen ser aminoácidos quirales o algún derivado adaptado al trabajo en columna.

El grosor de la película varía entre 0,1 y 5 μm ; el grosor depende de la volatilidad del analito. Así, un analito muy volátil requerirá una capa gruesa para aumentar el tiempo de interacción y separar más efectivamente los diferentes componentes de la mezcla. Para columnas típicas (diámetros internos de 0,25 o 0,32 mm) se emplean grosores de 0,25 μm , y en las columnas macrocapilares el grosor sube hasta 1 μm . El grosor máximo suele ser de 8 μm .

C.2 Análisis de alcohol en sangre por Cromatografía de Gas-Líquido

Este es un método para determinar el contenido de alcohol por el porcentaje normal en una muestra de sangre u orina.

La cromatografía de gas empleado en el análisis cuenta con un equipo con detector de ionización de flama, este detector es muy sensible para cantidades de alcohol muy pequeñas, es decir es 100 veces más sensible que los detectores de TCD.

Otra técnica desarrollada para el análisis del alcohol involucra la oxidación del etanol; esta reacción se lleva a cabo en presencia de la enzima alcohol deshidrogenasa y de un dinucleótido la coenzima NAD, que al oxidarse éste último nos da el NADH.

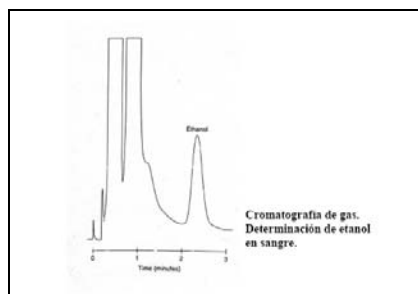


Figura 7. Cromatograma de una muestra de sangre con etanol

El grado de esta conversión es medida espectrofotométricamente y es relativo a la concentración de alcohol

D. **Fotométrico:** atenuación de la energía de radiación en la reacción de acoplamiento donde ADH^+ cataliza la oxidación del etanol y el $\text{NAD} + \text{H}$ se reoxida en presencia de una diaforasa con la reducción del iodonitrotetrazolio violeta a formazan. Es producto se absorbe a 492 nm en un espectro de emisión fluorescente.

E. **Electroanalítico:** (+0.8v vs ag/agcl) determinación electroquímica de la formación de $\text{NAD}+\text{H}$ en la oxidación por ADH^+ .

F. Determinación de alcohol etílico por microdifusión (Método de Conway)

Método que se basa en que si una sustancia es volátil y un disolvente puro se mantienen en compartimientos separados pero en contacto con la misma atmósfera el soluto volátil.

Tendería a disolverse en el disolvente puro: Finalmente esto implicaría una difusión del soluto desde la solución original al disolvente. Este proceso ocurrirá hasta alcanzar el equilibrio, pero si en lugar del disolvente puro se utilizara una sustancia que convierta al soluto volátil en no volátil, la difusión ocurrirá hasta que la presión de vapor en la atmósfera compartida tienda a cero.

Experimentalmente esto se realiza en una cámara tipo Obrick donde se coloca en el compartimiento externo K_2CO_3 , en el medio K_2CO_3 más la muestra (sangre) y en el interior $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, luego de un tiempo (10 horas a 25°C, 6 horas a 37°C, 2 horas a 50°C) el etanol pasa a ácido acético y el $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a Cr^{3+} , que se titula con iodo/tiosulfato.

6. OBJETIVOS

Objetivo general

- Proporcionar información confiable sobre los métodos que se utilizan para determinar alcohol en sangre en el intervalo Post-Mortem (IPM), y analizar la utilización que tiene en el campo forense.

Objetivos específicos

- Demostrar que la determinación de alcohol en sangre es útil y confiable para propósitos en el área forense; así como analizar cual es el mejor método para esta determinación.
- Analizar los factores ambientales y/o químicos que influyen en este tipo de determinación.
- Actualizar la información.

7. M E T O D O L O G I A

El desarrollo de la tesis se llevó a cabo con la recopilación de información bibliográfica que procede principalmente de México y Estados Unidos y su búsqueda se llevara a cabo en Bibliotecas, Instituciones Gubernamentales (Libros y Revistas de carácter científico) y por Vía Internet en páginas de la base de datos de la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM.

Es una tesis monográfica, descriptiva, retrospectiva.

8. RESULTADOS

Backer y Pisano en 1980, mencionaron que cuando se tiene una muestra de sangre que no está disponible o está contaminada para determinar la concentración de alcohol en la sangre (BAC) en este tipo de muestra, se pueden utilizar las estimaciones de las concentraciones de alcohol en la sangre procedente de otros fluidos fisiológicos o tejidos expresándose solamente dentro de un amplio rango de concentraciones, utilizando las siguientes tablas:

Tabla 3. Rangos de concentración para alcohol en diversos fluidos

Fluidos biológicos/casos	Rango de alcohol en sangre (g/100mL)	Proporción media	Rango
Vítreo / sangre 110	0,046 – 0,697	1,05 - 0,48	1,72
Cerebro / sangre 33	0,072 – 0,388	0,86 - 0,64	1,20
Bilis / sangre 89	0,046 – 0,697	0,99	0,48 – 2,04
Fluido espinal / sangre 54	0,046 – 0,697	1,14	0,79 – 1,64
Orina / sangre 92	0,046 – 0,697	1,16 – 0,53	2,17

Fuente:Backer R C, Pisano R V. Comparación de concentraciones de alcohol post-mortem en fluidos y tejidos. J Forensic Sci 1980; 25: 327-331.

Tabla 4. Predicciones de la CAS en diversos fluidos para etanol

Casos	correlación	m	b	Estimación de error estándar
Vítreo / sangre	0,92	0,96	0,029	±0,051
Cerebro / sangre	0,91	0,86	0,000	±0,035
Bilis / sangre	0,92	0,99	0,005	±0,048
Fluido espinal / sangre	0,96	1,03	0,028	±0,041
Orina / sangre	0,88	0,91	0,029	±0,063

Fuente:Backer R C, Pisano R V. Comparación de concentraciones de alcohol post-mortem en fluidos y tejidos. J Forensic Sci 1980; 25: 327-331.

También expusieron que la fórmula para calcular la concentración de alcohol en sangre, es a partir de la concentración de alcohol en otro fluido ó tejido es: $a-b/m$, donde a = concentración medida, m = pendiente de la línea de regresión lineal y b = la intercepción de la línea de regresión lineal. Estos autores observaron que durante el cálculo se pueden presentar dos veces el error estándar, el cual se puede agregar o sustraer de la concentración de alcohol en sangre (CAS) calculada, para así lograr un nivel de confianza del 95%. Así un cálculo de la muestra usando los datos que se muestran en la Tabla 4 y una concentración de alcohol dada en humor vítreo de 0.20g/100ml sería:

$$\frac{0.20 - 0.029}{0.96} = 0.17 \quad 2 \times 0.05 = 0.10 \quad \text{CAS} = 0.17 \pm 0.10$$

Los autores observaron que pocos estómagos exceden niveles de alcohol de 5000/100mL en contenido gástrico. Este hecho les indicó que la absorción de alcohol en estómago es muy rápida y eso dio apoyo a la teoría de que esa fase puede predecirse en base a los niveles de alcohol en estómago. En su estudio los niveles de alcohol de 0.5 g/100 mL fueron escogidos arbitrariamente como la media entre la fase de absorción y post-absorción. Los casos con concentraciones de alcohol menores a 0.5 g/100 mL de contenido gástrico fueron considerados en la fase de post-absorción y los otros fueron considerados en fase de absorción. Los datos también revelaron que la distribución teórica de los valores de alcohol en muchos casos, eran muy cercanos al valor real cuando la concentración de alcohol en el estómago fue menor a 0.5 g/100mL. Recalculando la concentración de alcohol en sangre y de la concentración de alcohol en cerebro, humor vítreo, fluido espinal y orina se mejoró significativamente el error estándar del calculado para casos en los cuales la concentración de alcohol en estómago fue menor a 0,5 g/100mL.

Por lo tanto los autores concluyeron que en la ausencia de sangre para análisis cuando la concentración de alcohol en el estómago es menor a 0.5g/ 100mL entonces el cerebro, fluido espinal o humor vítreo se pueden utilizar para calcular la concentración de alcohol en sangre.

Zumwalt y Bost en 1982 estudiaron 130 cuerpos humanos en descomposición para valorar el grado de putrefacción así como cuantificar las concentraciones de etanol en sangre, humor vítreo y orina de estos cuerpos. Los autores observaron en sus resultados, síntesis endógena de etanol; en sangre en 23 de los 130 cuerpos en descomposición. En 19 de los 23 casos los niveles fueron de 70 mg/dL o menos; en los otros cuatro casos fueron de 110,120, 130 y 220 mg/dL. La síntesis de etanol endógeno en humor vítreo fue negativa.

Gilliland y Bost en 1993 realizaron un estudio retrospectivo de los resultados de 286 cuerpos en descomposición de los cuales: 64 se encontraron levemente descompuestos (22.4%), 42 presentaron de leve a moderada descomposición (14.7%), 90 mostraron descomposición moderada (31.5%) y 90 estuvieron marcadamente descompuestos (31.5%); y observaron que, la formación postmortem o endógena de alcohol ocurrió en 55 (19.2%) del total de 286 casos descompuestos, similar al 18.7% encontrado en el estudio original de Zumwalt y Bost en 1982. En este estudio se observó la producción endógena de alcohol, cuyas concentraciones de alcohol se encontraron elevadas en sangre y en bilis mientras que las concentraciones de alcohol en humor vítreo y orina fueron negativas o más bajas como para dar una relación atípica de humor vítreo/ sangre u orina/sangre. La contaminación bacteriana se presenta en sangre antes que en el líquido del humor vítreo, La concentración de alcohol en sangre más elevada por producción endógena fue de 0.07% (70g/100mL), en los casos con otros líquidos negativos. La concentración media de alcohol en sangre fue de 0.06% (60g/100mL) y varió de tan elevado como 0.16% (160g/100mL) en casos que tienen relaciones atípicas. Los autores concluyeron que la mayoría de los casos con producción endógena de alcohol en sangre alcanzan una concentración de alcohol en sangre tan elevada como 0.15% (150g/100mL).

Levine B. y colaboradores en 1993. Explican la concentración de etanol que se encuentra después de la muerte. Ya que la interpretación después de la muerte de concentración de etanol (BAC), especialmente aquel valor que es menor de 0.05mg/dl, suele ser complicado por que el etanol puede ser formado de manera endogena

Por lo cual el toxicólogo tiene la posibilidad de analizar múltiples muestras para encontrar etanol. Entre las muestras se pueden analizar orina y humor vítreo, ya que son menos susceptibles a la putrefacción.

Los datos fueron recolectados por el jefe de medicina del Estado de Maryland y el Instituto de Patología de la Fuerza Armada sobre muestras de sangre con concentración de etanol menores a 0.05g/dL para así desarrollar un principio razonable para poder interpretar si falta una muestra un total de 38% casos con un BAC que se encontraba entre 0.01 y 0.04 mg/dL, los cuales fueron estudiados por 2 años. Los especímenes de orina y humor vítreo fueron disponibles donde se probaron.

En un BAC de 0.01 mg/dL, el 54% de los fueron asociados como positivo a la concentración de etanol en humor vítreo y orina. Este porcentaje fue incrementado a 63% en BAC equivalente a 0.02g/dl. El 73% y 92% de los casos tenían espécimen alterado como positivo de la BAC fue de 0.3 mg/dL y 0.04 mg/dL respectivamente. En adición el 90% de los casos en donde fueron ambos humor vítreo y orina fueron analizados mostrando los resultados. Ambos especímenes fueron positivos o negativos, Esto debido a la falta de información de BAC de 0.04 mg/dL o alta probabilidad para la destrucción de etanol.

En 1998 Silvestre y colaboradores realizaron pruebas comparativas para determinar la concentración de etanol en humor vítreo en relación a la concentración en la vena femoral. La importancia de esto es que se utiliza como evidencia en la corte para determinar en juicios delictivos y civiles. Por lo que midieron las concentraciones de alcohol en sangre de cuatro diferentes sitios vasculares de 9 personas fallecidas, las muestras fueron transferidas a un tubo que contenía fluoruro al 2% a 18°C, las muestras fueron analizadas por cromatografía de gases por duplicado. Obteniéndose lo siguiente:

Tabla 5. Concentraciones de alcohol postmortem (mg/100mL)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	proporción	rt
Vena femoral	13 4	256	360	265	26	236	213	102	244	0.94	0.98
Vena axilar	12 5	253	350	241	16	227	208	80	263	0.85	0.96
Vena yugular	87	246	344	230	19	218	205	57	225	0.77	0.97
Humor vítreo	13 8	294	-----	294	25	239	249	121	230	-----	-----

Estos resultados confirman que hay un error en el análisis de la concentración de alcohol en sangre después de la muerte, ya que son resultados muy altos.

Sadler y Pounder en 1996, utilizaron el valor diagnóstico *postmortem* de la gamma-glutamil transferasa (GGT) y transferrina deficiente en carbohidrato (TDC), como marcadores de alcoholismo crónico. La enzima gamma-glutamil transferasa en suero (GGT) es uno de los marcadores clínicos más frecuentes y tiene una sensibilidad reportada de 39-87% pero una especificidad de 11 – 50 %. Esta pobre especificidad se debe principalmente a las interferencias que producen las enfermedades hepáticas y la terapia con fármacos aunque puede ser espontáneamente elevada por difusión.

La transferrina deficiente en carbohidrato (TDC) ha tomado gran interés como marcador clínico del alcoholismo, ofreciendo de un 83-90% de sensibilidad y 99% de especificidad, pero la fuerza de este valor en el uso **postmortem** es aún desconocido.

O'Neal CL, Poklis A en 1996. Los investigadores estudiaron los factores que influyen en la interpretación para la concentración de etanol después de la muerte.

El análisis de etanol es un ensayo que se realiza frecuentemente en los laboratorios de toxicología forense. La interpretación que se le hace al hallazgo de etanol frecuentemente es confundida con la producción.

Muchas especies de bacterias y levaduras son capaces de producir etanol por una gran variedad de sustratos. La posibilidad de etanol después de la muerte incrementa con la temperatura de almacenamiento de la muestra así como del intervalo entre la muerte y la autopsia. Esto es usualmente una dificultad entre la producción de etanol después de la muerte y antes de la ingestión de alcohol. Esto presenta una discusión para la identificación de la síntesis de etanol después de la muerte y considerar factores en la interpretación de hallazgo de etanol después de la muerte.

Esto incluye un caso histórico, de condición de especímenes presente, tipos de microbios, fluido atípico y distribución de etanol en el tejido. La concentración presente de etanol y la concentración de otros alcoholes volátiles. Una interpretación válida del origen de etanol, esta puede darse antes de la muerte que sería la ingestión o después de la muerte es decir la producción de etanol.

Jones AW, Norberg A en 1997. Aquí investigaron la concentración de etanol que se encontraba en sangre arterial, venosa y en aliento después de una infusión intravenosa. Donde el etanol (0.40 g/kg) fue administrado a 13 hombres por vía intravenosa, con un infusión constante durante 30 minutos.

La concentración de etanol en sangre arterial, venosa y aliento fue medida en 17 intervalos. El etanol en sangre fue analizado por cromatografía de gas y en el aliento fue por un analizador infrarrojo. Posteriormente la concentración de etanol que se obtuvo en aliento fue multiplicado por 2300 a estimar la concentración de alcohol en sangre.

La concentración de alcohol en sangre venosa por 10mg/dl sobre el tiempo y ABAC (concentración de etanol en sangre arterial) también fue más alto que BrAC (concentración de etanol en aliento) x 2300 alrededor de 4 mg/dL en promedio. Cuando la infusión de alcohol en ABAC, VBAC (concentración de etanol en sangre venosa), BrAC fue de 94.8 \pm 2.06, 84.7 \pm 1.54 y 89.3 \pm 2.10 mg/dL respectivamente. La concentración de alcohol en sangre en ABAC y VBAC y el aliento decrece bruscamente después de la administración de la obstrucción del alcohol y por 5 minutos posinfusión. Las diferencias en A(arterial)-V (venosa) en concentración de etanol fueron pequeñas o insignificantes. El período aparente de distribución surgen de 7 a 8 mm, ya que alrededor de algunos para ABAC, VBAC y BrAC. El % de etanol desvanecido fue de 15.5 \pm 0.55 mg/dL/h para sangre arterial, 15.2 \pm 0.49 mg/dL/h para sangre venosa y 16.3 \pm 0.73 mg/dL/h para aliento no fueron significantes las diferencias (promedio mayor de 0.05). Concluyeron que las diferencias entre A(arterial)-V(venosa) en concentración de etanol existen durante la fase de carga pero es rápidamente disminuido cuando la administración de etanol termina, en la fase de absorción el etanol es mezclado en el agua del cuerpo.

VABC excede a ABAC por aproximadamente 1-2 mg/100mL en promedio.

Lima y Midio en 1999, estudiaron las muestras de sangre de cavidad torácica, orina y humor vítreo de 27 cuerpos con ligera, moderada y severa descomposición, para determinar las concentraciones de alcohol en sangre desde un punto de vista médico legal.

Los autores concluyeron de acuerdo con sus resultados que la determinación del alcohol en humor vítreo es fundamental para determinar el origen del etanol detectado en la sangre de la cavidad torácica de los cuerpos descompuestos.

En el 2002 Spinosa y Cinira demostraron que la micro extracción en fase sólida usando una fibra polar de poliacrilato y cromatografía de gas capilar es una metodología selectiva y conveniente para la determinación de etanol utilizando muestras de sangre, orina y humor vítreo. Donde el procedimiento es de fácil manejo, sensible, reproducible y permite una excelente cuantificación, obteniendo resultados precisos y exactos

Helander A, Jones AW en 2002. Este artículo habla de unos investigadores que están trabajando con ratio 5-HTOL / 5-HIAA que es un nuevo marcador bioquímico para la ingesta aguda de alcohol en diversas situaciones forenses; como sería en víctimas de violación, conductores en estado de ebriedad y en autopsias medico-legales donde el análisis de etanol sea requerido. La concentración de etanol en sangre y orina es una importante evidencia en el campo de la investigación criminal y litigación civil cuando los crímenes investigados tienen alguna relación con el alcohol.

La determinación de alcohol en fluidos del cuerpo humano es un procedimiento de rutina dentro de la Química forense y laboratorios de toxicología; donde los métodos de cromatografía de gas son los más usados ya que proporcionan resultados exactos y precisos. La relación del ratio 5-HTOL / 5-HIAA en orina provee un camino provechoso para distinguir entre el etanol producido después de la muerte o generado in Vitro.

9. D I S C U S I Ó N

La alcoholemia es uno de los estudios más solicitados en Toxicología Forense, debido a la importancia sanitaria que tiene el abuso de alcohol; además de que el alcohol está involucrado con algunos delitos.

Aunque la determinación de alcoholemia en cadáveres tiene ciertas limitaciones analíticas que se encuentran condicionadas por la falta de signos clínicos, así como la disponibilidad de muestras y teniendo en cuenta que algunas veces estas muestras se ven afectadas por los fenómenos postmortem que de cierta manera podrían modificar dichas tasas: como son los fenómenos de redistribución, cambios fisicoquímicos, la difusión de etanol desde el estómago, pérdidas de etanol y procesos debidos a la síntesis de etanol por la actividad microbiana. Para que estos factores no influyan en este tipo de muestras es necesario adicionar cloruro mercúrico, que es un conservador para sangre en cadáveres; y para evitar que los hidratos de carbono sean fermentados por bacterias y levaduras incrementando así la concentración de etanol, es recomendable la adición de un antiséptico a la muestra o en su defecto un inhibidor enzimático.

En los cuerpos que se analizaron en 1983 y en 1998 las concentraciones que se encontraron de etanol en sangre, son muy elevadas, esto puede verse influido por la alta descomposición de los cuerpos y por que no se utilizó ningún conservador ni tampoco un antiséptico.

Por lo general en algunos cadáveres el alcohol puede difundir del estómago al ventrículo, y como consecuencia obtenerse valores de concentraciones de etanol muy elevadas; por lo cual las muestras que se tomaron de la venas presenta esta alteración; además de que no es recomendable tomar muestras de la cavidad torácica ya que está generalmente se encuentra mezclada con el fluido pericárdico o pleural ocasionando así una difusión postmortem.

La alcoholemia como lo describieron los autores Backer y Pisano en 1980 para realizar cualquier cálculo sobre la concentración de etanol en sangre, fluido fisiológico o tejido, sólo se puede expresar dentro de un amplio rango de concentración, utilizando rangos de concentración de alcohol de diferentes fluidos y utilizando las tablas de predicciones CAS .

10. C O N C L U S I O N E S

El abuso que se tiene al consumir bebidas alcohólicas (alcoholismo) en la sociedad, representa un gran problema de salud pública, ya que muchas veces bajo los efectos del alcohol se llevan a cabo ciertos delitos como: son asesinatos , violaciones, accidentes automovilísticos, entre otros.

Ya que el alcohol etílico es una sustancia capaz de afectar a la gran mayoría de los sistemas del organismo provocando así ciertas alteraciones en el metabolismo del cuerpo humano; esto debido a las características tan peculiares que tiene esta sustancia.

Podemos mencionar que los órganos que se ven más afectados por el etanol son el hígado, el páncreas, el corazón, el sistema nervioso central, sistema endocrino y el sistema inmunológico.

La determinación de la alcoholemia es de suma importancia, aunque actualmente ya se esta dejando de usar para dar lugar a la utilización de otros tipos de muestras entre las cuales se encuentra el humor vítreo, ya que debido a su localización anatómica donde se encuentra aislado y protegido de la contaminación y la putrefacción, así como también al desarrollo de bacterias que puedan influir en la determinación de etanol en esta muestra. Además de que la forma de procesarla es de la misma manera que al analizar sangre, es decir por cromatografía de gases; donde los resultados son precisos y exactos.

En la orina también se esta estudiando la posibilidad de estudiar la relación del ratio 5-HTOL / 5-HIAA para así dar un camino provechoso para distinguir entre el etanol producido después de la muerte o generado in Vitro.

Por lo tanto la determinación de alcohol es uno de los estudios que se realiza en toxicología forense, para determinar la presencia de esta sustancia en el organismo; además de que el método que nos proporciona resultados más confiables es la cromatografía de gases.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Ladero M. Drogo Dependencia. 2ª edición. Madrid. Ed. Médica Panamericana. 2003. pp 337-375.
- 2.- Bowman W.C., Rand M.J. Farmacología. Bases Bioquímicas y Patológicas: Aplicaciones Clínicas. 2ª edición. Ed. Interamericana. México. 1984. pp 8.10-8.14, 42.2-42.21.
- 3.- Repetto M. Toxicología Avanzada. Madrid. Ed. Díaz de Santos. 1995. pp 428-472.
- 4.- Curtis D. Toxicology The Basic Science of Poisons. 6th edition. United States of América. Ed. Mc-Graw-Hill. 2001. pp 115-122.
- 5.- Martínez M., Saldivar L. Medicina Legal. 16ª edición. México. Ed. Méndez Editores. 2000. pp. 223-231.
- 6.- Montoya M. Toxicología Clínica. 3ª edición. México. Ed. Méndez Editores. 2002. pp 165-170.
- 7.- Vargas E. Medicina Legal. México. Ed. Trillas. 1996. pp 148-160.
- 8.- Flores J. Farmacología humana. 2ª edición. Ed. Científicas y Técnicas S.A. Barcelona. 1992. pp 419-423.
- 9.- Villanueva C., Caluging G. Medicina Legal y toxicología. 6ª edición. Ed. Mosson, Barcelona España. 2004. pp 764-780.
- 10.- Loraine B., Dreisbach R. Manual de Toxicología Clínica de Dreisbach: Prevención, Diagnostico y Tratamiento. 7ª edición. México. Ed. Manual Moderno. 2003. pp 98-113.
- 11.- Craig R.C. Modern Pharmacology with clinical applications. 4th edition. Ed. Little, Brown and company. Boston. 1994. pp 439-443.
- 12.- Smith. Farmacología. Ed. Médica Panamericana. México, D.F. 1993. pp 254-269.
- 13.- Wesley G. Farmacología Médica. Ed. Mosby división de times Mirror de España. 1993. pp 342-344.
- 14.- Goodman Louis y Gilman Alfred. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ª edición. Ed. Médica Panamericana. España. 1993. pp 369-375.
- 15.- Bradford LW. Preservation of blood samples containing alcohol. J Forensic Sci. 1966;2:214-216.

-
- 16.- Plueckhahn VD, Path Mc, Ballard B. Diffusion of stomach alcohol and heart blood concentration at autopsy. *J Forensic Sci.* 1967;**12**:4,463-470.
- 17.- Plueckhahn VD. The significance of blood alcohol levels at autopsy. *Med J Aust*, 1967; **2**: 118-124.
- 18.- Felby S. Olsen J. Comparative studies of post-mortem ethyl alcohol in vitreous humor, blood and muscle. *J Forensic Sci.* 1969;**14**:93-101.
- 19.- Coe J I, Sherman R. E. Comparative study of postmortem vitreous humor and blood alcohol. *J Forensic Sci* 1970;**15**:185-190.
- 20.- Ponsold A. *Manual de Medicina Legal*. Barcelona. Ed. Científico Médica. 1955. pp. 178-185.
- 21.- Pounty R, Anderson W. A comparison of postmortem Herat blood and femoral blood ethyl alcohol concentration. pp 165-171.
- 22.- Repetto M, Martínez D. Estudio por GLC de la distribución del alcohol en suero y sangre total. *Rev Esp. Med Legal.* 1974; **9**: 1, 28-30.
- 23.- Backer R C, Pisano R V. The comparison of alcohol concentrations in post-mortem fluids and tissues. *J Forensic Sci* 1980; **25**: 327-331.
- 24.- Budd RD. Ethanol levels in post-mortem body fluids. *J. Chromatography.* 1982; **252**:315-318.
- 25.- Clark M. A., Jones J W. Studies on putrefactive ethanol production. I: lack of spontaneous ethanol production intact human bodies. *J Forensic Sci* 1982; **21**:366-371.
- 26.- Zumwalt R.E, Bost R.O. Evaluation of ethanol concentrations in decomposed bodies. *J Forensic Sci* 1982;**27**: 549-554.
- 27.- Dubowski, KM. Absorption, distribution and elimination of alcohol: Highway safety aspects. *S. Srud Alc*, 1985;**10**: 98-108.
- 28.- Yip D C, Shum B S. A study on the correlation of blood and vitreous humour alcohol levels in the late absorption and elimination phases. *Med Sci Law* 1990;**30**:29-33.
- 29.- Captan Y H, Levine B. Vitreous humor in the evaluation of postmortem blood ethanol concentrations. *J Anal Toxicol* 1990;**14**:305-307.
- 30.- Pentilla A, Karhunen P.J. alcohol screening with the alcscan test strip in forensic praxis. *J Forensic Sci Int* 1990; **44**:43-48.

-
- 31.- Jones AW. Forensic aspects of ethanol metabolism. En: Maehly A. Williams RL (edits.). Forensic science progress. Vol. 5, Berlin, Springer-Verlag,1991.
- 32.- Montgomery Mr, Reasor MJ. Retrograde extrapolation of blood alcohol data. J of Toxicol and Envir Health, 1992;**36**: 281-292.
- 33.- Briglia EJ, Bidanset JH, Dal Cortivo LA. The distribution of ethanol in postmortem blood specimens. J Forensic Sci.1992; **4**: 991-998.
- 34.- Gilliland M.G., Bost R.O. Alcohol in decomposed bodies: post-mortem synthesis and distribution. J Forensic Sci 1993; **38**:1266-1274.
- 35.- Levine B, Smith M, Smialek JE. Interpretation of low postmortem concentrations of ethanol. J Forensic Sci 1993; **May**;**38(3)**:663-7.
- 36.- Chao T.C, Lo D S. Relationship between postmortem blood and vitreous humor ethanol levels.
- 37.- O'Neal C L, Poklis A. Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation. A critical review. Am J Forensic Med Path 1996; **17**: 8-20.
- 38.- Sadler D W., Pounder D.J. Postmortem markers of chronic alcoholism. J Forensic Sci Int 1996; **82**:153-163.
- 39.- O'Neal CI, Poklis A. Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation: a critical Review. Am J Forensic Med Patho 1996; **Mar****17(1)**:8-20.
- 40.- Singer P P, Jones G R. Very unusual ethanol distribution in a fatality. J Anal Toxicol 1997;**21**: 506-508.
- 41.- Lones A W, Norberg A. Concentration-time profiles of ethanol in arterial and venous blood and end-expired breath during and after intravenous infusion. J Forensic Sci 1997; **Nov**;**42(6)**:1088.1094.
- 42.- Sylvester P.A, Wong. Unacceptably high site variability in post-mortem blood alcohol analysis. Clin Pathol 1998;**51**:250-252.
- 43.- Lima I.V , Midio A.F. Origin of blood ethanol in decomposed bodies. J Forensic Sci 1999;**106**: 157-162.
- 44.- Enhelhart D.A y col. Evaluation of an onsite alcohol testing device for use in post-mortem forensic toxicology. J Anal Toxicol 2001; **25**: 612.-615.
- 45.- Hardin G. Postmortem blood and vitreous humor ethanol concentrations in a victim of a fatal motor vehicle crash. J Forensic Sci 2002;**47**:402-403.

46.- Spinosa M B, Cinira SM. Automated headspace solid-phase micro-extraction and capillary gas chromatography analysis of ethanol in postmortem specimens. *J Forensic Sci Int* 2002;**128**:115-119.

47.- Helander A, Jones A W. 5-HTOL- a new biochemical alcohol marker with forensic applications. *Lakartidningen*.2002 **Oct 3;99(40)**:3940-3954.