



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores ZARAGOZA

**EMPLEO DEL HUMOR VÍTREO COMO MUESTRA ALTERNA PARA
LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BENZOILECGONINA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

Cynthia Verónica Guerrero Bautista

DIRECTOR DE TESIS: M en C. ÁNGEL GARCÍA SÁNCHEZ

MARZO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Integrantes del jurado

- Presidente
 - Vocal
 - Secretario
 - Suplente
 - Suplente
- Dra. Martha Sánchez
M en C. Ángel García Sánchez
M en C. A. Lourdes Castillo Granados
Q.F.B. José Oscar Gonzáles Moreno
Q.F.B. Leticia Juárez



Agradecimientos

Al desarrollar este proyecto, he encontrado personas que me han apoyado de una manera singular, cada una de ellas ha dejado en mi persona y en este trabajo un legado muy extenso en conocimientos que me han ayudado a reforzar mi carrera estudiantil y laboral, es por esta razón que tomo este espacio en este libro, para agradecer de la manera más sincera posibles a todas esas personas que directa o indirectamente estuvieron conmigo.

Agradezco a mis padres Federico y Guadalupe, que han sido los pilares de mi educación, a la gran familia Guerrero Bautista que va creciendo y me han apoyado de manera incondicional y finalmente mi abuelita Margarita y a su encantadora familia.

A J. Angel Sánchez Zilli y su apreciable familia que me han otorgado su apoyo y confianza.

Deseo incluir también de manera general a los integrantes del Servicio Médico Forense del Distrito Federal:

Dr. Takahashi M. F.	Director del SEMEFO
Dr. Luna R. A.	Subdirector del SEMEFO
Dr. Pompeyo S.	Subdirector técnico del SEMEFO
Q.F.B. Waldo C. A.	Jefe de U. D. de Laboratorio de Química
I.B.Q. Ruiseco M. B.	Químico
C. Martínez R. C. M. T.	Auxiliar de laboratorio

Y en especial al turno de fines de semana que amenizaron mi estancia siendo un grupo unido y cordial.

Dr. Mundo C. G.
Dr. Quezada B. N.
Dr. Cárdenas G. J. N.
Dr. Hernández E. H. G.
Antropólogo Valencia
M en C Bernal E. M.
Q.F.B. González S. E.

De este mismo turno un agradecimiento al personal de identificación y al personal técnico de necropsia, Jesús Núñez, Gerardo, Simón, Saúl, Cesar y Román; por su estupendo trabajo y apoyo, y a todas esas personas que pude no mencionar cuya participación resultara primordial en la realización de este proyecto.

Y para concluir deseo agradecer a los profesores que a lo largo de mi desarrollo académico me proporcionaron sus valiosos conocimientos, en especial al M en C. Ángel García, Sánchez por su apoyo y constante interés en este trabajo.



11. PERSPECTIVAS

Se espera que en un futuro no muy lejano se lleve a cabo el empleo del humor vítreo como muestra alterna en el análisis de cocaína, en las instalaciones del servicio Médico Forense del Distrito Federal, ya que en base a este estudio se comprobó que esta muestra es capaz de reportar datos certeros y confiables, en ausencia de las muestras de uso común.

El manejo y almacenamiento de la muestra es similar a las de uso común, puede ser almacenada en la jeringa de extracción previamente sellada o en un micro contenedor de polietileno, durante tres meses después de ser analizada, para previos estudios.

Al contar con esta muestra alterna el químico forense podrá solicitar al encargado de la necropsia el envío de dicha muestra con el fin de apoyar en el dictamen correspondiente a la averiguación previa.



ÍNDICE

1.	Resumen	1
2.	Introducción	2
3.	Marco teórico	4
3.1.	Consumo de drogas	4
3.1.1.	Drogas de abuso	5
3.2.	Epidemiología	6
3.3.	Cocaína	8
3.3.1.	Historia	8
3.3.2.	Aspectos botánicos	8
3.3.3.	Química	10
3.3.4.	Farmacología	11
3.3.4.1.	Formas de abuso	11
3.3.4.2.	Mecanismo de acción	13
3.3.4.3.	Toxicidad	14
3.3.5.	Farmacocinética	15
3.3.5.1.	Absorción	15
3.3.5.2.	Distribución	16
3.3.5.3.	Metabolismo	16
3.3.5.3.1.	Metabolitos de degradación	17
3.3.5.4.	Eliminación	19
3.3.6.	Cuadro clínico	20
3.3.7.	Acciones farmacológicas	21
3.3.7.1.	Aparato cardiovascular	21
3.3.7.2.	Temperatura corporal	21
3.3.7.3.	Sistema Nervioso Central	22
3.3.7.4.	Ojo	22
3.4.	Muertes violentas relacionadas con el consumo de cocaína	23



3.5. Servicio Médico Forense	23
3.5.1. Laboratorio químico toxicológico	23
3.5.1.1. Funciones	24
3.5.2. Fenómenos cadavéricos	24
3.5.3. Área química toxicológica	25
3.5.3.1. Análisis toxicológico	26
3.5.3.2. Análisis de cocaína	26
3.5.4. Muestras biológicas	27
3.5.4.1. Orina	27
3.5.4.2. Sangre	28
3.5.4.3. Hígado	28
3.5.4.4. Humor vítreo	29
4. Planteamiento del problema	31
5. Objetivos	32
6. Hipótesis	32
7. Metodología	33
7.1. Materia	33
7.1.1. Equipo e instrumentos	33
7.1.2. Sustancias	34
7.1.3. Reactivos	34
7.2. Diseño del estudio	34
7.2.1. Tipo de estudio	34
7.2.2. Población	35
7.2.3. Variable	35
7.2.4. Análisis estadístico	35
7.3. Técnicas experimentales	35
7.3.1. Ensayo inmunoenzimático múltiple	35
7.3.1.1. Sangre	36
7.3.1.2. Orina	36



7.3.1.3. Hígado	36
7.3.1.4. Humor vítreo	37
7.3.2. Extracción líquido – líquido	37
7.3.2.1. Sangre	37
7.3.2.2. Orina	38
7.3.2.3. Hígado	38
7.3.2.4. Humor vítreo	38
7.3.3. Cromatografía de gases selectivo a masas	39
8. Resultados	41
9. Discusión	46
10. Conclusiones	49
11. Perspectivas	50
12. Referencias	51
13. Anexos	56
14. Glosario	64



1. RESUMEN

Antecedentes. El análisis toxicológico forense forma parte de los dictámenes de necropsia realizados y es parte fundamental en el esclarecimiento de muertes violentas, pues a partir del mismo puede llegar a conocerse la causal del deceso y así responsabilizar o exonerar al presunto o presuntos implicados en los hechos. Las muestras biológicas empleadas de forma común en el Servicio Médico Forenses del Distrito Federal, son orina, sangre e hígado; pero en algunas situaciones y por causas inherentes a la muerte del sujeto no es posible emplear alguna o en ocasiones ninguna de ellas. En estudios toxicológicos previos empleando al humor vítreo como muestra biológica se han obtenido resultados satisfactorios para otras poblaciones. Por lo anterior, se decidió realizar un análisis comparativo empleando las muestras de elección común y el humor vítreo para poder establecer si los resultados obtenidos son confiables.

Objetivo. Determinar si el humor vítreo es una muestra biológica adecuada para llevar a cabo el análisis toxicológico de la cocaína y su principal metabolito de degradación (benzoilecgonina).

Material y métodos. Se realizó un estudio observacional, prospectivo transversal y comparativo en 117 muestras provenientes de 35 cadáveres con resultados positivos a la presencia de benzoilecgonina en un análisis presuntivo empleando muestras de sangre, orina hígado y humor vítreo. Para lo anterior fue empleado el inmunoensayo enzimático Emit[®] II *plus*. Los datos obtenidos fueron analizados empleando análisis de varianza de un factor y comparaciones múltiples (Prueba de Tukey).

Resultados. Las concentraciones medias de benzoilecgonina (en ng/mL) para las muestras biológicas empleadas fueron: Orina 896,62; Humor Vítreo 740,12; Hígado 705,85 y sangre 475,18. $p < 0.005$ ($p = 0.0000015$). De acuerdo a los valores obtenidos para cada muestra, se observó que la variabilidad mostrada en el análisis estadístico fue provocada por la sangre como muestra.

Conclusiones. El humor vítreo mostró ser una muestra biológica útil para el análisis toxicológico forense.



2. INTRODUCCIÓN

El consumo de drogas y la dependencia que provocan en el organismo, es un problema que no solo afecta al consumidor, sino también a la sociedad que lo rodea, observando múltiples escenarios de violencia que en ocasiones concluyen de manera trágica.

En México, datos reportados en la quinta Encuesta Nacional de Adicciones 2008, muestran un incremento en el consumo de las drogas legales (alcohol y tabaco) e ilegales (anfetaminas, barbitúricos, benzodiazepinas, opiáceos, marihuana y cocaína). Entre las drogas ilegales de mayor consumo, se encuentra la marihuana, seguida por la cocaína, que desplaza a las sustancias inhalables (tolueno, acetona y benceno, principalmente) obteniendo un mayor número de consumidores en relación a los datos reportados en el 2002 por la misma institución. La cocaína llega al mercado en presentaciones cada vez más adictivas; provocando un estado de dependencia, que modifica el comportamiento del consumidor.

Para detectar la presencia de la droga de abuso y la de sus metabolitos en el organismo, se realizan diversos estudios toxicológicos en muestras biológicas como: sangre, orina, saliva, sudor, leche materna, fluido amniótico, pelo, uñas, entre otras, estas al ser procesadas dan a conocer la concentración y el tiempo relativo en el que fue consumida la droga de abuso.

Las muestras biológicas de elección, que son empleadas en un laboratorio toxicológico son orina y sangre.

La orina es considerada la muestra idónea, ya que mide consumos recientes de alrededor de 48 horas, es una muestra que proviene de una vía de eliminación del organismo y las concentraciones de la droga se pueden encontrar casi en su totalidad. En cuanto a la sangre, entre otras funciones se encarga de la distribución de diversas sustancias en el organismo, proporcionando datos confiables en consumos recientes, ya que detecta la cocaína unas horas después (6-8 horas) de su consumo dependiendo del organismo.

El Servicio Médico Forense (SEMEFO) del Distrito Federal (DF), es una dependencia jurídica, que cuenta con un laboratorio de toxicología, donde se



analizan muestras provenientes de individuos que sufrieron muertes violentas o de causa desconocida, con el fin de dar a conocer la causa de muerte y poder deslindar o dar responsabilidades. En esta dependencia se realizan análisis toxicológicos empleando sangre, orina o hígado, principalmente.

Las muestras son analizadas mediante un análisis inmunoenzimático, y se emite un dictamen que ayuda al médico forense a concluir la causa de muerte, no obstante existen situaciones en las que el estado físico del cuerpo, no permite el empleo de las muestras de elección, ya que presenta traumatismos que provocan la pérdida de sangre, orina o miembros, como son: quemaduras de tercer grado; estados de descomposición o deshidratación, situaciones donde el medio ambiente se ha encargado de modificar la consistencia del cuerpo, provocando contaminaciones o ausencia de las muestras.

Para el químico forense que labora en SEMEFO del DF esta situación crea problemas, al realizar un dictamen toxicológico, ya que se ve en la necesidad de anular el estudio por falta de muestra o por ser inadecuada. En diversos laboratorios químicos toxicológicos del área forense se ha llegado a presentar la misma problemática, dando como solución, el empleo de diversas muestras biológicas como son: fragmentos de pulmón, riñón, cerebro, contenido gástrico, humor vítreo, entre otras; en las que se pueden detectar la presencia de drogas de abuso.

En base a las alternativas que ofrecen los laboratorios de toxicología, en este trabajo se propone, detectar la benzoilecgonina, que es el principal metabolito de degradación de la cocaína, mediante el análisis del humor vítreo, ya que es un fluido biológico que no requiere un proceso de purificación previo a la detección de la droga, se encuentra libre de contaminantes externos y no presentar cambios post-mortem, lo que permite emplearlo cuando las muestras de elección no sean adecuadas.

Con este fluido se propone una alternativa segura al químico, para que realice el análisis toxicológico correspondiente, reportando datos confiables que respalden el dictamen del médico forense.



3. MARCO TEÓRICO

3.1. CONSUMO DE DROGAS

El entorno social del ser humano está lleno de factores que provocan cambios en su comportamiento; que en ocasiones están relacionados con el consumo de drogas. El cambio se observa de manera diferente dependiendo del organismo, el tipo de droga consumida, la cantidad, la frecuencia y las combinaciones que se realicen entre ellas.

Una droga está definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como toda sustancia que introducida en el organismo vivo, pueden modificar una o más funciones de este, y por droga de abuso como cualquier sustancia, tomada a través de cualquier vía de administración, que altera el estado de ánimo, el nivel de percepción o el funcionamiento cerebral.¹

El uso de drogas de abuso por el hombre, tiene una historia ancestral, ya que eran empleadas en ritos religiosos (para hablar con sus dioses), en el tratamiento de enfermedades, como mitigador del apetito, entre otras funciones; con el tiempo se fueron desarrollando procesos de refinamiento, que llevaron a varios compuestos a la industrialización y al consumo masivo por el ser humano.²

El consumo frecuente de una o varias drogas de abuso, llevan a un estado llamado “tolerancia”, que consiste en la disminución de los efectos típicos de una sustancia cuando se usa de manera regular, o bien, un efecto que se mantiene similar aún cuando se aumenta la cantidad de la sustancia. Al consumo recurrente de una o varias sustancias se le conoce como adicción.

La adicción es un síndrome constituido por un conjunto de signos y síntomas en donde el individuo presenta la necesidad de consumir una sustancia que provoca un estado placentero en su organismo.^{1, 2}

Algunos síntomas característicos de las adicciones son:³

- Daño o deterioro progresivo de la calidad de vida de la persona, debido a las consecuencias negativas en la práctica de la conducta adictiva.



- Pérdida de control caracterizado por la práctica compulsiva de la conducta adictiva.
- Negación o auto engaño que se presenta como una dificultad para percibir la relación entre la conducta adictiva y el deterioro personal.
- Uso a pesar del daño que causa la droga, lo cual se manifiesta como la práctica continua de la conducta adictiva.³

Entre las drogas de abuso que provocan efectos adictivos, se encuentra la cocaína por sus efectos euforizantes y el estado de bienestar que algunos consumidores presentan.⁴

3.1.1. DROGAS DE ABUSO

Existen varios tipos de drogas, estos pueden agruparse en diversas categorías. Por ejemplo, Shuckit (1995) las agrupa en ocho grupos: depresores del Sistema Nervioso Central (SNC), estimulantes o simpaticomiméticos del SNC, opiáceos, cannabinoles, alucinógenos, solventes, drogas para contrarrestar otros efectos y otras. (Cuadro 1)¹

Cuadro 1 Clasificación de las drogas según Shuckit (1995)

Clase	Algunos ejemplos
Depresores del SNC	Alcohol, hipnóticos, drogas ansiolíticas
Estimulantes o simpaticomiméticos del SNC	Anfetaminas, metilfenidato, todos los tipos de cocaína, productos para perder peso
Opiáceos	Heroína, morfina, metadona y casi todas las prescripciones analgésicas
Cannabinoles	Marihuana, hachís
Alucinógenos	Dietilamida de ácido lisérgico (LSD), mezcalina, psilocibina, éxtasis
Solventes	Aerosoles, colas, tolueno, gasolina, disolventes
Drogas para contrarrestar otros efectos	Contienen: atropina, escopolamina, estimulantes menores, analgésicos menores
Otros	Fenciclidina (PCP)



En el cuadro 1, se clasifican las drogas de abuso más comunes, entre estas se encuentran los estimulantes o simpaticomiméticos que son fármacos que afectan específicamente las funciones del SNC, el cual está compuesto por el cerebro y la médula espinal.⁵

En esta categoría se encuentra la cocaína, una droga de abuso que llegó a convertirse en un problema para algunas personas, al sentir la necesidad de consumirla de manera constante, creando una dependencia hacia este alcaloide, alterando las funciones del SNC. La cocaína es una sustancia capaz de inhibir el dolor, modificar el estado de ánimo y alterar las percepciones.^{5, 6}

Su uso y abuso se fue haciendo cada vez más notorio en el comportamiento de los consumidores, dando pie a asociarla con hechos violentos y con traumatismos accidentales o voluntarios.⁴

El estado de agresión provocado por el consumo de cocaína, genera situaciones donde las personas atentan contra su vida y la de los demás. Los actos violentos suelen ser causados por la necesidad de consumir una nueva dosis, valiéndose de actos delictivos para conseguirla. Al disminuir sus efectos eufóricos, el organismo entra en un estado depresivo, que en ocasiones provoca que la persona acabe con su vida. En la actualidad es considerada una droga de abuso siendo prohibido su consumo.^{4, 5}

La cifra de víctimas derivadas del consumo de drogas es como muchas otras una cifra negra, en las actas de defunción, el fallecimiento suele presentarse como consecuencia de una falla cardíaca, falla pulmonar, suicidio, entre otras (Anexo13.1).^{2, 4}

3.2. EPIDEMIOLOGÍA

El consumo de drogas de abuso en nuestro país es monitoreado por diversas instituciones como el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las Adicciones (SISVEA), el Consejo Nacional de Adicciones (CONADIC), la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA), el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), la Secretaría de Salud (SS), entre otras.^{7, 8}



La ENA, es el resultado de un esfuerzo conjunto entre la SS y el INEGI con el propósito de generar información epidemiológica que facilite el estudio del consumo del tabaco, alcohol y otras drogas de abuso, y permita conocer la magnitud del problema en nuestro país. En 1974 se realizó la primera encuesta sobre adicciones, siendo el antecedente más temprano de la ENA. Su objetivo era obtener información sobre las características del uso de diversas sustancias entre la población de 12 a 65 años a nivel nacional.⁷

Otra institución de gran importancia que estudia la epidemiología de los consumidores de drogas es el SISVEA, que inicia formalmente en 1991; actualmente se encuentra operando en 25 ciudades de 18 entidades federativas. Genera información periódica y oportuna sobre el consumo de tabaco, alcohol, drogas médicas e ilícitas, con lo cual es posible identificar grupos en riesgo, drogas emergentes, cambios en los patrones de consumo y factores de riesgo asociados con el uso y abuso de las drogas sujetas a vigilancia. El SISVEA se apoya en estrategias de recolección de datos de centros de tratamiento y rehabilitación de drogas de organismos gubernamentales y no gubernamentales, clínicas de tabaquismo, grupos de autoayuda (Alcohólicos Anónimos), Consejos Tutelares de Menores, Servicios Médicos Forenses y servicios de urgencias de hospitales de segundo nivel y de especialidad psiquiátrica.⁸

En México el consumo de drogas de abuso ha ido en aumento en los últimos seis años, en base a los datos entregados por la ENA 2008, que reporto un incremento del 29,0%, en relación a los datos obtenidos en el 2002.

Un dato de gran relevancia es el incremento de más del 50,0% en seis años, reportado entre los consumidores de cocaína; tomando como comparativo la ENA 2002 la cual reporto un 1,23% de consumidores en ese año, y los datos reportados en la ENA 2008 son de 2,5%. Esto crea un desconcierto en la sociedad, ya que no solo se observan un aumento de consumidores, sino que la edad promedio en que se inicia el consumo de dicha droga es cada vez menor.⁹ Como edad promedio para iniciar en el consumo de cocaína esta institución reportó para el 2008 un 42,9% de consumidores que se encuentran entre 15 y 19 años, seguido de un 40,9% para



edades entre 10 y 14 años. Dando a conocer edades de incidencia inferiores a otros años.¹⁰

En conjunto con la información obtenida por la ENA 2008, se encuentran los datos reportados por el SISVEA 2008, realizada en el Distrito Federal (DF) para consumidores de cocaína (cocaína, basuco y/o crack), que se encuentran en instituciones de rehabilitación de drogas de abuso, donde reportan un 43.86% de una población de 1,467 encuestados, que presentan problemas de adicción a la cocaína y asisten a los centros de tratamiento para su rehabilitación.⁷

En el mercado existen nuevas y diversas formas comerciales de cocaína como el crack, una presentación más adictiva que va dirigida a personas de menos recursos económicos. Los factores asociados con la iniciación en el consumo de drogas de abuso, son variados; dependiendo de la formación que se le dio al menor, la integración familiar con la que se desarrollo, el tipo de entorno, entre otros.^{6,7}

3.3. COCAÍNA

3.3.1. HISTORIA

La cocaína se ha convertido en un problema grave no solo desde el punto de vista toxicológico sino también desde el punto de vista social y de seguridad ciudadana. Es cultivada desde la región caribeña y centroamericana, hasta la cuenca del Amazonas. Para los Incas fue Manco Cápac, un Dios que otorgo la bendición de Mama Coca para soportar el hambre y la fatiga. Los indios americanos también masticaban las hojas de tabaco y coca como sustituto del refrigerio. Las hojas de coca se empleaban como talismanes y amuletos para prosperar en el amor y los negocios, sobre todo en ceremonias religiosas.^{1,11}

3.3.2. ASPECTOS BOTÁNICOS

La coca es un arbusto que da lugar a una diversidad de productos utilizados en ocasiones como alimento y otras como mitigador del dolor. La sustancia que de ella deriva se clasifica como un psicoactivo, es extraída de las hojas de *erythroxylon*



coca, arbusto originario de la zona tropical de los Andes, que crece en regiones cálidas y húmedas entre 600 - 1 500 msnm. Uno de los usos más extendidos fue entre los trabajadores al norte de los Andes, para no sentir el cansancio mientras extraían estaño o plata de las minas, o para labrar los campos. Los habitantes de este lugar la emplean para reprimir el cansancio, el hambre y el mal de altura en sus travesías por las montañas, desde las llanuras hasta los altos (Machu Picchu).^{1, 5}

La coca pertenece a la familia de las eritroxiláceas, con hojas alternas, ovoides y enteras, flores blanquecinas y fruto en baya pequeña de color rojo (Figura 1), los arbustos crecen a una altura media de un metro; sus hojas contienen hidratos de carbono, caroteno, fibra cruda, vitaminas (A, E, B1, B2, B3 y C), proteínas, elementos (calcio, fósforo, hierro, potasio y sodio), tanina y de 14 a 17 alcaloides distintos pertenecientes al grupo de tropánicos, siendo el más conocido y estudiado, la cocaína.

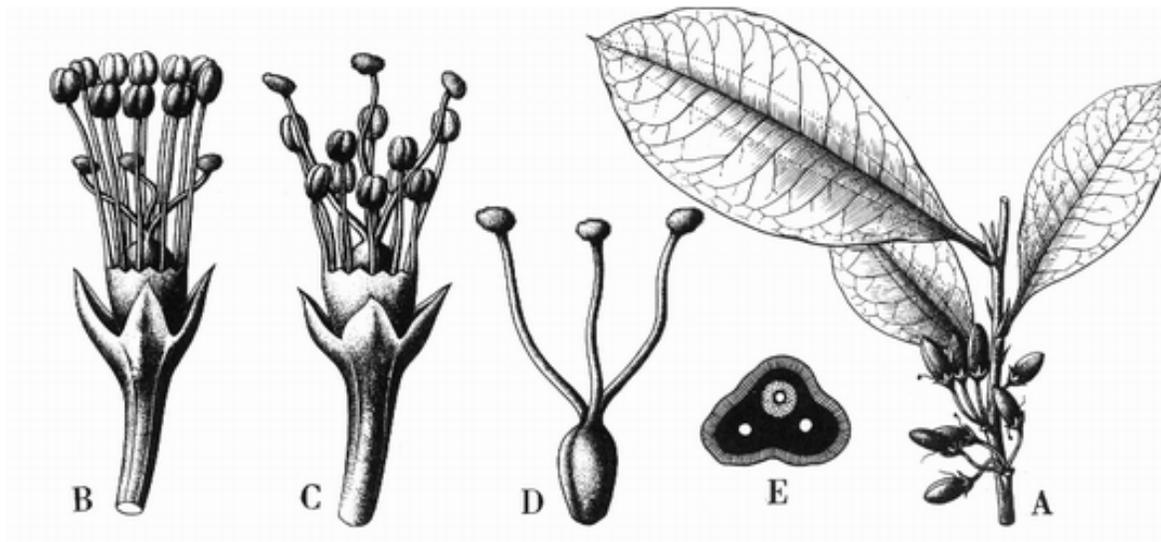


Figura 1. *Eritroxylum coca*: Rama florífera (A), flores desprovistas de pétalos (B, C), gineceo (D), corte transversal del fruto (E). Detalles aumentados.¹²

Los alcaloides son compuestos nitrogenados, que se comportan como base frente a los ácidos formando sales, entre los alcaloides que componen la hoja de coca se encuentran.^{5, 12}

- **Cocaína:** Tiene propiedades anestésicas y analgésicas.



- Ecgonina: Metaboliza grasas, glucidos y carbohidratos.
- Atropina o escopolamina: Provoca sequedad en el árbol respiratorio.
- Pectina: Regula la producción de melanina para la piel.
- Papaína: Este fermento acelera la digestión.
- Higrina: Excita las glándulas salivales cuando hay deficiencia de oxígeno en el ambiente.
- Globulina: Es un cardiotónico, que mejora la circulación sanguínea.
- Piridina: Acelera la función y formación del cerebro, aumenta la irrigación sanguínea.
- Quinolina: Evita la formación de caries dentales.
- Conina: Anestésico poderoso.
- Cocamina: Analgésico.
- Inulina: Es empleada como marcador renal.
- Benzoína: Evita la putrefacción y acelera la formación de células musculares.
- Reserdina: Regula la presión arterial.

3.3.3. QUÍMICA

Físicamente la cocaína (benzoilmetilecgonina) es un compuesto cristalino, $C_{17}H_{21}NO_4$ (Figura 2) de color blanco, sabor amargo y reacciona con los ácidos, formando sales.¹³

Su masa molecular es de 303,35 g/mol; el porcentaje de elementos es de C-67,31%, H-6,98%, N-4,62%, O-21,10%; su punto de fusión es de 98°C; es soluble en agua, alcohol, cloroformo y éter, insoluble en acetona y acetato de etilo; es empleado como anestésico local en el área de oftalmología.¹⁴

El contenido en cocaína de las hojas secas varía entre 5,0 – 12,0 g por Kg de hojas. De una hectárea de cocaína se pueden obtener hasta 250,0 Kg de hojas, 1,250 Kg de pasta de coca y 0,500 Kg de clorhidrato de cocaína (forma comercial).^{13,15}

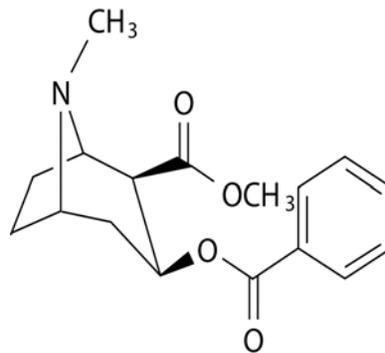


Figura 2. Estructura de cocaína *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* uses "cascading style sheets" for visual layout. Pharmaceutical Press 2004¹³

3.3.4 FARMACOLOGÍA

En el mercado existen diferentes formas de abuso de la cocaína que determinan las vías de administración de esta droga y que influyen de forma importante en la farmacología de la cocaína. En nuestro país, la cocaína se fuma o se esnifa principalmente, pero también se inyecta, por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea, estas vías son poco usuales entre los consumidores, por el hecho de emplear una aguja y el riesgo que implica el compartirla.^{1, 16}

3.3.4.1. FORMAS DE ABUSO

La cocaína es una droga versátil y económica, que ingresa al mercado con una gran cantidad de formas y mezclas. Desde masticar hojas de coca, acompañadas de una fuente de carbonato, hasta el crack o roca, con efectos inmediatos e intensos, siendo la forma más barata pero más adictiva.^{1, 15}

Al inhalarla se lleva a cabo un proceso, en el que es aspirado el polvo a través de las narinas, donde es absorbida al torrente sanguíneo por medio de los tejidos nasales, esta es una forma muy común de usarla, debido a la intensa vascularización de la mucosa de la nasofaringe.^{1, 2} La inyección es el acto de usar una aguja para administrar la droga directamente al torrente sanguíneo.¹ Al fumarla se inhalan los vapores o el humo, que ingresa a los pulmones, donde la absorción al torrente sanguíneo es muy rápida.¹⁵



Las formas y las vías de consumo de la cocaína son distintas y variadas; condicionan la farmacodinamia, la farmacología, la toxicidad y el grado de adicción, (Cuadro 2), entre los preparados se distinguen fundamentalmente las siguientes formas de abuso:^{5, 16}

- Hojas de coca: Las hojas de los arbustos originarios de Bolivia, Perú y Ceilán contienen pocos alcaloides, pero una proporción superior de cocaína. Se utilizan para disminuir la hipoxia y el hambre, la absorción es variable dependiendo, del contenido de las hojas y de la presencia o ausencia de sustancias alcalinas en la boca del masticador.^{1, 16}
- Clorhidrato de cocaína: Conocida como nieve, coca o farlopa, es un polvo blanco cristalino de sabor amargo, es la sal de la cocaína formada con ácido clorhídrico. Se utiliza por vía nasal o por mucosas y se puede diluir para inyección. Se presenta en forma de cristales escamosos blancos.¹⁶
- Pasta de coca, base de cocaína, sulfato de cocaína o basuco: Es la parte menos pura y más tóxica, debido a los restos de azufre y gasolina, que contiene el producto bruto, no refinado, forma una pasta blanca o pardusca que se fuma.⁵
- Speed ball: Es una mezcla de cocaína y heroína y alarga la euforia, con efectos psicológicos muy intensos provoca una perturbación mental que ocasiona comportamientos agresivos. Esta unión provoca descontrol y falta de coordinación psicomotriz, con riesgo de caer en estado de coma o la muerte.^{1, 2}
- Cocaína base: Se obtiene mezclando el clorhidrato de cocaína con una solución básica (amoníaco, hidróxido de sodio o bicarbonato sódico), luego se filtra el precipitado y se deja secar. Existen dos formas de consumo: la primera consiste en inhalar los vapores de la base libre ("free base"), extraída del clorhidrato con solventes volátiles (éter), a muy alta temperatura (800°C), utilizando mecheros de propano y el "crack" o "roca" como la segunda forma de consumo, es una forma de cocaína base que se obtiene añadiendo



amoníaco a una solución acuosa de clorhidrato de cocaína en presencia de bicarbonato sódico para alcalinizarla; se calienta a 98°C; la base libre precipita en forma de pasta, que una vez seca tiene aspecto de porcelana, que se tritura en escamas; se suele presentar como gránulos de 125,0 a 300,0 mg (1 ó 2 dosis).^{16,17}

- “Crack C”: mezcla de crack con alucinógenos.

Cuadro 2. Formas de abuso de la cocaína, Cocaína Aspectos farmacológicos¹⁶

FORMAS DE ABUSO							
Tipo de sustancia	Concentración de cocaína	Vía de administración	Porcentaje en plasma	Velocidad de aparición de efectos	Concentración máxima en plasma	Duración de efecto	Desarrollo dependencia
Hojas de coca	0,5 – 1,5%	Mascado infusión oral	20,0 – 30,0%	Lenta	60 minutos	30 – 60 minutos	?
Clorhidrato de cocaína	12,0 – 75,0%	Tópica: ocular, genital, intranasal (esnifar)	20,0 – 30,0%	Relativa- mente rápida	5 – 10 minutos	30 – 60 minutos	Si Largo plazo
Clorhidrato de cocaína	12,0 – 75,0%	Parenteral: endovenosa, subcutánea, intramuscular	100,0%	Rápida	30 – 45 segundos	10 – 20 minutos	Si Corto plazo
Pasta de coca	40,0 – 85,0% (Sulfato de cocaína)	Fumada	70,0 – 80,0%	Muy rápida	8 – 10 segundos	5 – 10 minutos	Si Corto plazo
Cocaína base	30,0 – 80,0% (Alcaloide cocaína)	Inhalada- Fumada	70,0 – 80,0%	Muy rápida	8 – 10 segundos	5 – 10 minutos	Si Corto plazo

3.3.4.2. MECANISMO DE ACCIÓN

La cocaína es empleada en medicina como un anestésico local. Su efecto clínico más importante consiste en bloquear la conductancia de los canales de sodio y por lo tanto incrementa el umbral para generar un potencial, bloqueando la recaptación de los neurotransmisores: norepinefrina (NE), dopamina (DA) y serotonina (5-HT).

La NE es la responsable de los efectos clásicos adrenergicos observados con el uso de la cocaína, entre los que se encuentran: midriasis, vasoconstricción, hipertensión y taquicardia. Estos efectos pueden ser los más importantes



toxicológicamente, mientras que el responsable del comportamiento es mediado por la acción dopaminérgica.^{17, 18}

En la figura 3 se muestra el mecanismo de acción, en base al bloqueo de los canales de recaptación de DA y NE.

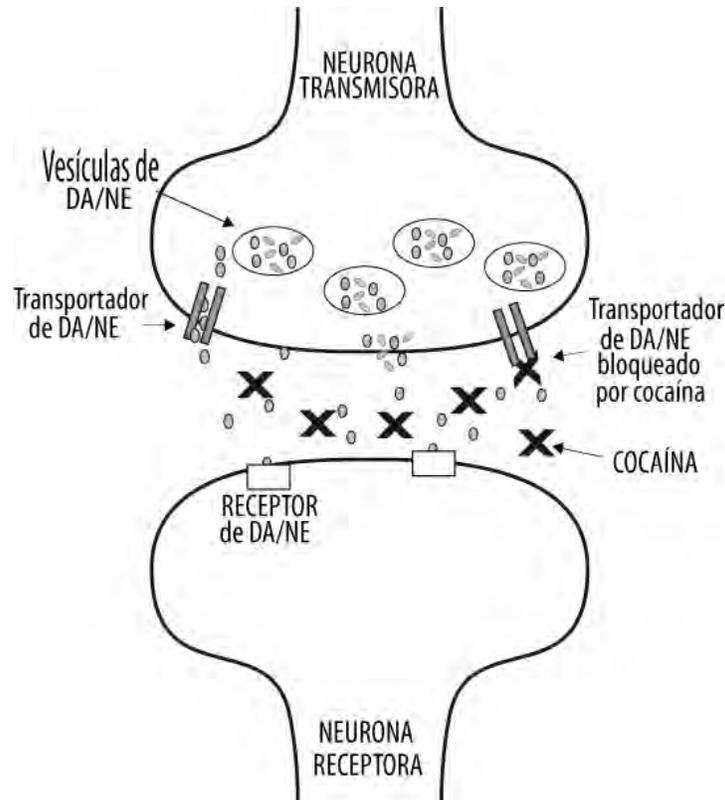


Figura 3. Mecanismo de acción de la cocaína¹⁶

3.3.4.3. TOXICIDAD

La dosis mortal para el ser humano adulto, por vía intravenosa es de 1,0 g, debido a la toxicidad directa, ya que actúa sobre el miocardio ocasionando paro respiratorio, aunque se debe señalar que esto depende del tipo de organismo que la consume.⁵

Otro riesgo más allá del potencial de adicción, implica la manifestación en el organismo de arritmias cardíacas, vasoconstricción cerebral y ataques cardíacos. Además el uso de cocaína se asocia con muertes violentas y traumatismos.



En mujeres embarazadas, provoca nacimientos prematuros y en ocasiones malformaciones en el feto.¹⁹

3.3.5. FARMACOCINÉTICA

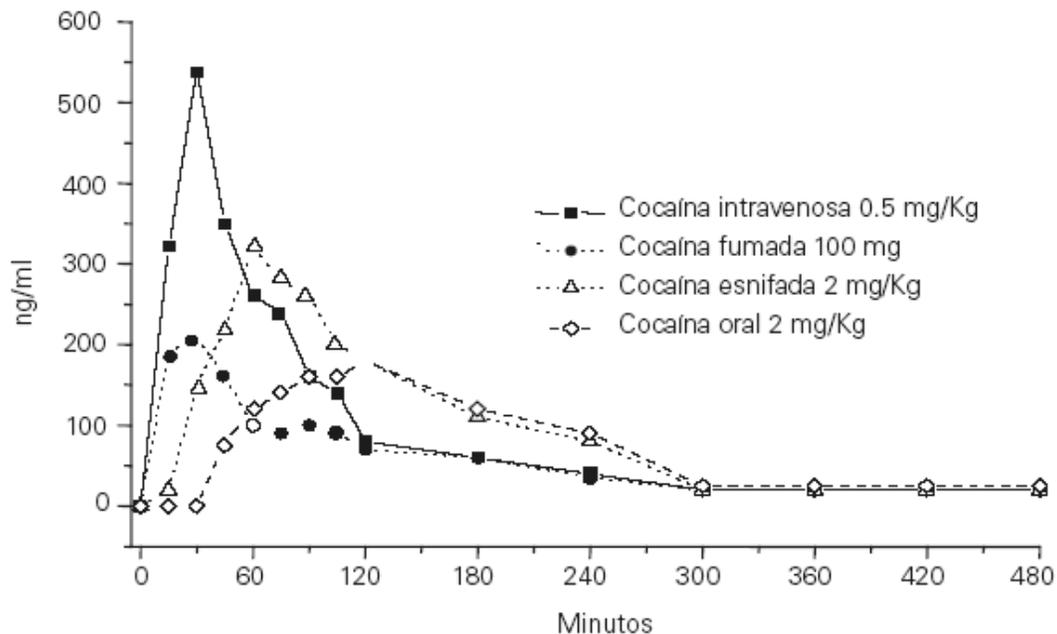
La cocaína es una base débil y en su forma básica, es absorbida de forma rápida y eficaz. Al ser inhalada o inyectada por vía intravenosa, atraviesa la barrera hematoencefálica encontrándose niveles en el cerebro en 30 segundos, mientras que fumada tarda 5 segundos en tener efectos centrales.

La cantidad relativa que se absorbe a nivel sistémico depende fundamentalmente de la vía de administración. La gráfica 1 muestra las diferencias temporales de los picos plasmáticos que se producen después de administrar una dosis de cocaína por diferentes vías de administración a voluntarios sanos¹⁶. Puede observarse que en la vía intravenosa la droga, alcanza concentraciones muy elevadas en un tiempo relativamente corto, y por vía oral a pesar de ser una dosis mayor esta se reporta en una concentración menor en el organismo.

3.3.5.1 ABSORCIÓN

Los niveles plasmáticos reportados para la mucosa nasal después de inhalar una dosis de cocaína de 2,0 mg/Kg, muestran un pico máximo de 320,0 ng/mL a los 60 minutos y la absorción a través del tracto digestivo, después de su administración oral similar a la anterior, se muestra un pico máximo de 170,0 ng/mL a los 120 minutos, donde sus concentraciones se unen y son relativamente similar, a partir de los 120 minutos a los 300 minutos, donde van decreciendo. En cuanto a los niveles plasmáticos reportados por una administración de 0,5 mg/Kg por vía intravenosa se reporta una concentración de 540,0 ng/mL a los 30 minutos, y comienza a decrecer. Los datos obtenidos después de ser fumada una muestra de 100,0 mg de cocaína reporta un pico máximo de 200,0 ng/mL en 30 minutos y comienza a decrecer.

El pico plasmático se produce normalmente a los 30 o 60 minutos; aunque como en otros parámetros de la cinética de la cocaína, la variabilidad individual es muy grande, con intervalos de 30 a 120 minutos (Gráfica 1).^{16, 19}



(Modificado de Jones 1998)

Gráfica 1. Niveles plasmáticos de cocaína¹⁶

3.3.5.2 DISTRIBUCIÓN

La cocaína después de ser administrada, es distribuida ampliamente por todo el organismo. El volumen de distribución varía entre 57,0% por vía oral y aproximadamente 70,0% fumada.¹⁶

3.3.5.3 METABOLISMO

Esta droga de abuso es metabolizada de manera rápida, generalmente por hidrólisis enzimática para producir benzoilecgonina, ecgonina metil ester y posteriormente ecgonina. Es un potente inhibidor de la recaptación Tipo I de noradrenalina, dopamina y serotonina, lo que facilita la acumulación de esos neurotransmisores en la hendidura sináptica. Según la forma de abuso se condiciona la farmacocinética, la actividad farmacológica, la toxicidad y el grado de adicción de la droga.¹⁹

Cuando la cocaína es consumida por una persona, el cuerpo humano empieza a realizar un proceso bioquímico de eliminación del toxico, generalmente por hidrólisis enzimática, para producir: benzoilecgonina (BE), metabolito que se encuentra en mayor concentración en el organismo, otra vía de degradación es mediante



estearasas para generar ecgonina metil ester y ácido benzoico, y en menor concentración se genera la norcocaína a través de enzimas P450 (Figura 4).^{16,19}

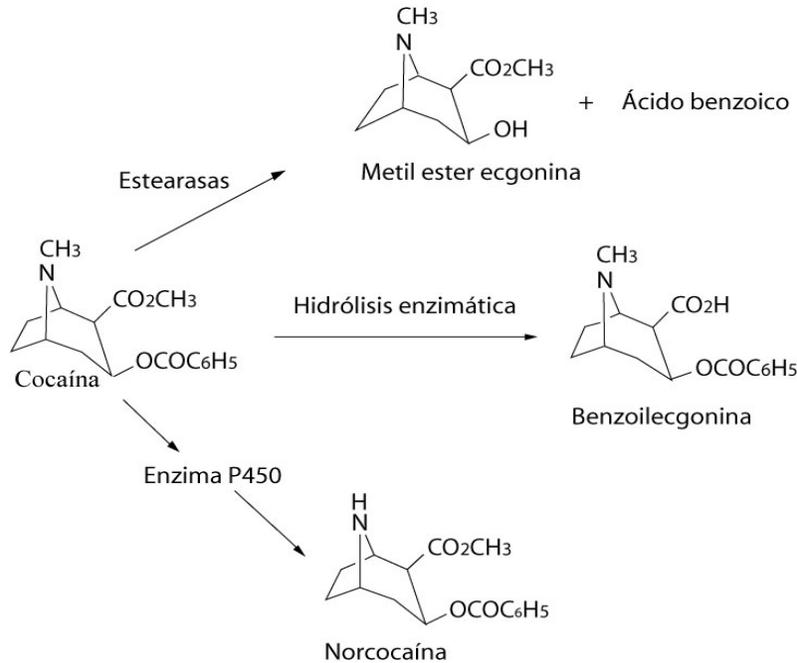


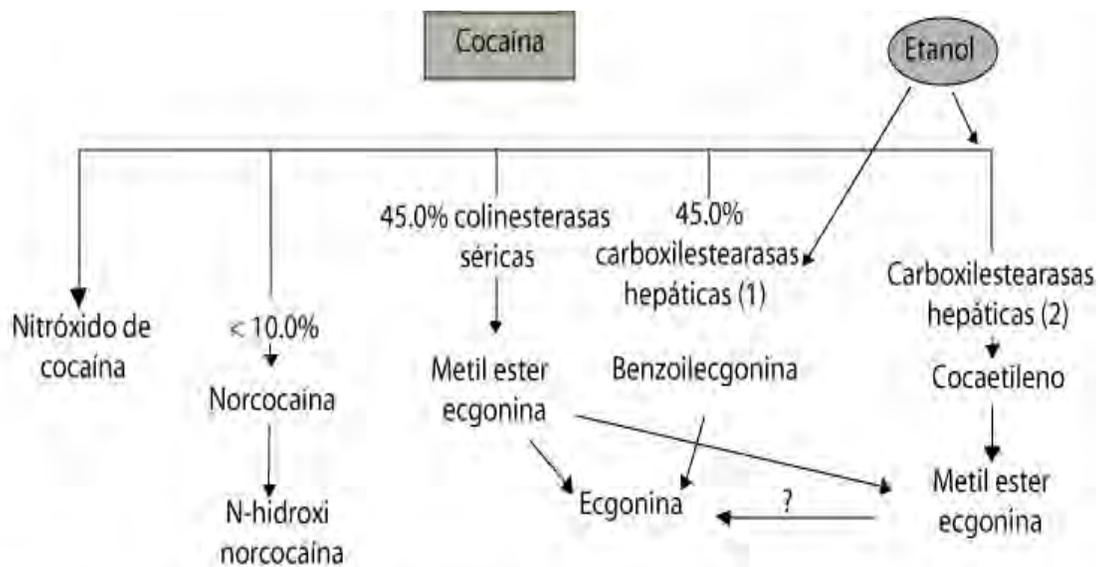
Figura 4. Estructuras de metabolitos de cocaína¹⁶

3.3.5.3.1 METABOLITOS DE DEGRADACIÓN

Entre los metabolitos de degradación reportados para la cocaína se encuentra la benzoilecgonina ($\text{C}_{16}\text{N}_{19}\text{NO}_4$) que es el principal metabolito de degradación, su masa molecular es de 289,30 g/mol, su punto de fusión es de 86 - 92°C, soluble en alcohol y en agua caliente.¹⁴ El 45,0% de una dosis administrada es transformada mediante hidrólisis a benzoilecgonina; este porcentaje es relativamente superior al obtenido mediante estearasas, transformando la cocaína a ecgonina metil ester (Figura 4). Ninguno de los dos metabolitos posee actividad biológica significativa en humanos. En cuanto a la norcocaína nitróxido y otros radicales libres son metabolitos potencialmente activos, pero se producen en pequeñas cantidades que generalmente no representan cantidades farmacológicamente significativas en clínica humana.¹⁵



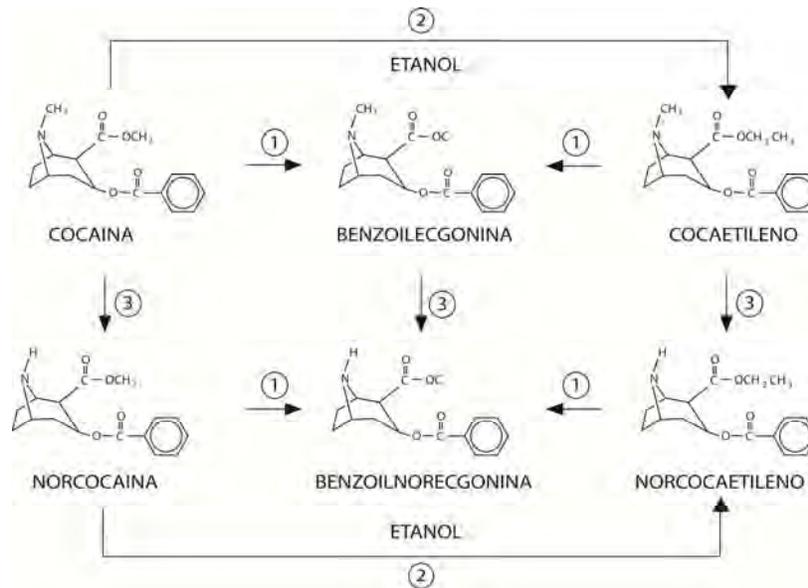
Cuando la cocaína se fuma, la droga se piroliza a una serie de compuestos químicos dependiendo de la temperatura. El principal metabolito es la anhidroecgonina metil ester (AEME), también conocida como metil ecgonidina, este metabolito es farmacológicamente activo en animales, sin embargo en humanos existen muy pocos trabajos y no se conoce con exactitud su perfil farmacológico. AEME se puede detectar en orina, incluso después de haber fumado pequeñas cantidades; sin embargo este metabolito no aparece cuando la cocaína se esnifa o se administra por vía intravenosa.^{15, 16} (Figura 5)



- (1) Cataliza la hidrólisis del metil ester de cocaína a benzoilecgonina.
- (2) Cataliza la etil transesterificación de cocaína a cocaetileno.

Figura 5. Metabolismo de la cocaína¹⁶

La BE es detectada en orina, esta muestra es la más utilizada para monitorear los tratamientos de cocainómanos, ya que puede ser detectada en un lapso de 3 - 4 días después del último consumo; esto dependiendo de la cantidad de cocaína consumida y la vía de administración.



1-Carboxilesterasa hepática inhibida por el etanol, 2-Transesterificación inducida por el etanol y 3-N-desmetilación catalizada por una enzima dependiente del citocromo P450

Figura 6. Estructuras del metabolismo de cocaína en presencia de etanol^{15, 17}

Al fumar alguna sustancia que contenga cocaína o sus derivados, genera efectos intensos e inmediatos, pero la cantidad absorbida es menor y por tanto las concentraciones de BE en plasma son también menores.¹⁸

El ingerir alcohol, permite al organismo consumir más cocaína, lo que exige a la larga más sedación. La presencia de etanol en el organismo inhibe la actividad de la metilesterasa, disminuyendo la hidrólisis de la BE. En presencia de etanol, la cocaína es transesterificada por esterasas hepáticas a etilcocaína o cocaetileno (Figura 6) y se incrementa la N-desmetilación a Norcocaina. El cocaetileno posee actividad farmacológica y tóxica (fundamentalmente a nivel cardíaco e incluso hepático).^{15, 17, 19}

3.3.5.4 ELIMINACIÓN

El aclaramiento de la cocaína es muy rápido, con variaciones entre 20 y 30 mL/min/Kg. La semivida plasmática de la cocaína es variable con intervalos de 1 a 1,5 horas. La benzoilecgonina presenta una semivida plasmática de 6 - 8 horas y la ecgonina metil ester de 3 - 8 horas.¹⁹



3.3.6 CUADRO CLÍNICO

El consumo de cocaína es considerado extremadamente adictivo, con efectos que se perciben en un lapso de 10 segundos y duran alrededor de 20 minutos. Dada su alta capacidad de producir daños y hasta destrucción celular, las sensaciones que son placenteras en individuos de reciente consumo se convierten en ocasiones en efectos desagradables como agitación, llanto, irritabilidad, alucinaciones de tipo visual, auditiva y táctil, delirio paranoico, amnesia, confusión, fobias o terror desmedido, ansiedad, depresión grave y tendencias suicidas.¹⁸

Penetra directamente en el Sistema Nervioso Central (SNC) a través del torrente sanguíneo produciendo una sensación agradable, anestésica y estimulante. La anestesia se produce al bloquear la transmisión nerviosa y el estímulo al producir interferencia intersináptica, teniendo capacidad de reforzar las norepinefrinas, moléculas o aminoácidos del SNC, los efectos anoréxicos e inhibidores del sueño se producen al actuar directamente sobre el hipotálamo, el sistema reticular ascendente y en el cerebelo.^{5, 18}

Los efectos de la cocaína a corto plazo se presentan casi inmediatamente después de una sola dosis (aumento de energía, disminución de apetito, agudeza mental, aumento en las palpitations del corazón y la tensión arterial, contracción de los vasos sanguíneos, aumento de la temperatura, dilatación de las pupilas) y desaparecen en cuestión de minutos u horas. Las personas que consumen pequeñas cantidades (hasta 100,0 mg) de esta droga generalmente se sienten eufóricos, energéticos, conversadores y mentalmente más alertas, particularmente con relación a las sensaciones visuales, auditivas y del tacto; también puede disminuir temporalmente la necesidad de comer y dormir. Algunos usuarios sienten que la droga los ayuda a realizar algunas tareas físicas e intelectuales más rápido, mientras que a otros les produce el efecto contrario.^{11, 18}

Los efectos a largo plazo son: intranquilidad, paranoia, alucinaciones auditivas, irritabilidad y cambios de temperamento.

El uso crónico moderado mediante la administración nasal, de 250,0 mg aproximadamente a lo largo de todo el día, distribuida en cinco o siete



administraciones, provoca insomnio, falta de apetito, debilidad en el sentido de autocrítica y lucidez.^{1,20}

Las consecuencias de su consumo son complejas y variadas, involucra daños de diversas índoles: orgánicos, sociales, familiares, psicológicos, etc.

Sus efectos fisiológicos inmediatos son: sudoración, aumento en la potencia muscular, midriasis, incremento de actividad cardíaca y presión sanguínea, dilatación de los vasos sanguíneos, convulsiones, aumento en el ritmo respiratorio y de la temperatura corporal. Estos síntomas pueden provocar la muerte por paro cardíaco o fallas respiratorias. Además se presentan irritaciones y úlceras en la mucosa nasal. Causa congestión nasal, que puede presentarse o no con secreción líquida.²⁰

Estimula la corteza cerebral con acción inmediata en el sistema nervioso autónomo con taquicardia, aumento de la presión arterial y pupilas dilatadas (midriasis) con intolerancia a la luz (fotofobia), ojeras y palidez.^{18,20}

3.3.7 ACCIONES FARMACOLÓGICAS

3.3.7.1 APARATO CARDIOVASCULAR

La cocaína produce en el aparato cardiovascular: vasoconstricción y aumento de la presión arterial, bradicardia y frecuentemente taquicardia por estímulo sinusal, como consecuencia directa del estímulo simpático, tanto central como periférico. Aumenta la fuerza de contracción y la frecuencia cardíaca. También produce midriasis, temblor y sudoración por estímulo simpático.²¹

3.3.7.2 TEMPERATURA CORPORAL

Aumenta la temperatura corporal debido a la actividad muscular, se pierde el control dopaminérgico de receptores hipotalámicos reguladores de la temperatura y por agotamiento de los depósitos de dopamina, con hipertermia de rebote. Esta hipertermia puede ser acompañada de convulsiones que se atribuyen al principio de sobredosis.²²



3.3.7.3 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La cocaína es un potente estimulante del SNC, aunque sus efectos como tal dependen de factores como el tipo de consumidor, el ambiente, la dosis y la vía de administración. Las dosis moderadas ocasionan: elevación del estado de ánimo, sensación de mayor energía y lucidez, disminución del apetito, insomnio, mayor rendimiento en la realización de tareas, disminución de la sensación de fatiga, hiperactividad motora y verbal.^{20, 22}

3.3.7.4. OJO

Es frecuente la inflamación e infección de los canales lagrimales que puede presentarse en forma aguda o crónica, en los usuarios de cocaína aspirada, puede ser unilateral o bilateral, manifestándose con dolor y edema en la región del saco lagrimal.

Para entender esta patología, relativamente frecuente en esta adicción, es recomendable recordar que las lágrimas se fabrican en las glándulas lagrimales, situadas en la región superior y externa de la órbita ocular, las lágrimas bañan la conjuntiva y su exceso es evacuado por los puntos lagrimales en el canto interno de los párpados, que a su vez se comunican a través de canales con la región posterior de las fosas nasales (corneto inferior) y nasofaringe (Figura 7).²²

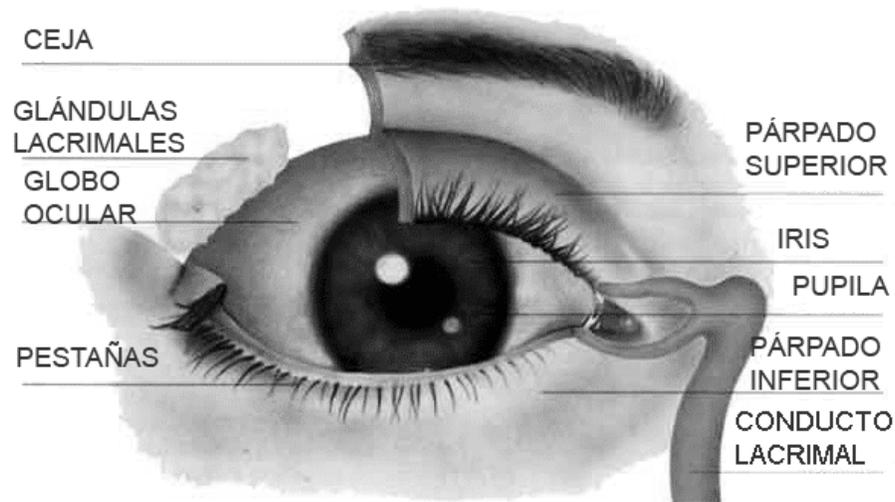


Figura 7. Estructura del ojo y la nariz



3.4 MUERTES VIOLENTAS RELACIONADAS CON EL CONSUMO DE COCAÍNA

La violencia es un acto que invade y corrompe a una sociedad y se ve favorecida por el consumo de drogas, como la cocaína, un psicoactivo que causa entre los consumidores un comportamiento violento, provocando actos delictivos, estafa, narcotráfico y actos ilícitos con el fin de obtener nuevas dosis. En algunos casos, estos actos concluyen de manera trágica, debido a una sobredosis o depresiones que llevan al suicidio, muertes con alto índice de violencia, que por lo general van ligadas al consumo simultáneo de alcohol etílico y cocaína, entre otros.^{1,3}

Este tipo de muertes en el DF, son procedidas al Ministerio Público (MP), para realizar la integración de su averiguación previa, la cual consta de una investigación post-mortem realizada por el Servicio Médico Forense (SEMEFO) del DF con el fin de esclarecer la causal de la muerte.²³

3.5. SERVICIO MÉDICO FORENSE

El Servicio Médico Forense del Distrito Federal es una dependencia gubernamental perteneciente al Tribunal Superior de Justicia del DF donde ingresan los cadáveres de individuos que sufrieron muertes violentas, dudosas (el familiar no está de acuerdo con el tratamiento que se le proporcionó a su familiar) y desconocidas (muerte súbita); con la finalidad de realizar una necropsia médico-legal que es solicitada por el MP para conocer la causal de la muerte y poder deslindar o dar responsabilidades.

Esta dependencia colabora con la impartición de justicia mediante los peritajes que son realizados dentro de su jurisdicción emitiendo dictámenes de necropsia, análisis químico toxicológicos, histopatológicos, dactiloscópicos, odontológicos, de identificación, entre otros.²⁴

3.5.1. LABORATORIO QUÍMICO TOXICOLÓGICO

Entre los dictámenes de necropsia realizados, se encuentran los llevados a cabo por el químico perteneciente al laboratorio de toxicología forense, que tiene como objetivo identificar sustancias tóxicas volátiles y no volátiles en muestras biológicas



(fluidos y tejidos) provenientes de cadáveres, con el fin reportar datos confiables en relación a los diversos análisis toxicológicos.²⁵

3.5.1.1. FUNCIONES

El laboratorio de toxicología tiene como funciones: el efectuar los análisis químico-toxicológicos que sean solicitados por los peritos médicos, adscritos al SEMEFO; identifica y cuantifica metabolitos de alcohol etílico y drogas de abuso, en muestras biológicas que son remitidas por los juzgados penales del Tribunal o enviadas por diferentes hospitales públicos. También se lleva a cabo el control de expedientes de cada uno de los cadáveres a los que se les realizan estudios toxicológicos y se emite los resultados correspondientes.²⁴

3.5.2. FENOMENOS CADAVERÍCOS

Al ingresar un cadáver al SEMEFO, en ocasiones presenta diversos estados de modificación del cuerpo, como consecuencia de las incidencias del medio, estas pueden ser inmediatas (la extinción de las funciones vitales del sistema nervioso, cardiovascular y respiratorio); consecutivas (procesos y modificaciones físicas, químicas y biológicas) y transformativas (la putrefacción cadavérica, producida por acción bacteriana que destruye el cadáver paulatinamente).²⁶

La transformación que se lleva a cabo en el cuerpo, altera las muestras biológicas empleadas en el análisis toxicológico, creando contaminaciones o simplemente eliminándolas, provocando un problema al químico toxicólogo al tratar de realizar dicho análisis. Estos cambios pueden ser provocadas por:^{26, 27}

- a) Deshidratación; que se provoca debido a la pérdida de líquido por evaporación, eliminando en ocasiones la sangre y la orina, muestras de uso común en el análisis toxicológico. Las modificaciones cutáneas se muestran por el apergaminamiento de la piel; las mucosas, por la desecación de los órganos sexuales externos y por último, las oculares, por el signo de Stenon Louis (opacidad en la cornea que se inicia a partir de las 12 horas después de la muerte) y el de Sommer o mancha negra esclerótica (mancha negra irregular que se debe



a la oxidación de la hemoglobina de los vasos coroideos y a la deshidratación; se localiza en los ángulos externos del segmento anterior del ojo y luego en los internos. Comienza a partir de la quinta hora post mortem si los párpados están abiertos).²⁸

b) Putrefacción; en este caso se simplifican las complejas estructuras químicas del organismo, esta constituida por factores exógenos y endógenos. Los primeros abarcan la temperatura y el medio ambiente donde se encuentra el cuerpo y los segundos a los parásitos y bacterias intestinales. La descomposición es precoz en verano y tardía en invierno.²⁷

c) Muerte violenta; en donde se pierda uno o varios órganos y fluidos, como individuos quemados o mutilados.²⁶

3.5.3. ÁREA QUÍMICA TOXICOLÓGICA

Cuando ingresa una muestra al laboratorio de toxicología, debe estar correctamente identificada (Figura 8), encontrarse en las mejores condiciones posibles (muestra suficiente y sin contaminaciones) y ser adecuada para el análisis toxicológico, ya que de eso dependerá un resultado confiable y seguro. Dado que no todos los cuerpos que ingresan al SEMEFO se encuentran en las condiciones mas apropiadas para su estudio, es necesario emplear muestras alternas que permitan al químico resolver la incógnita y apoyar al médico forense con su dictamen.^{24,27}

Diagrama de un formato de identificación de muestras en el SEMEFO. El formato es un rectángulo con una esquina superior izquierda redondeada y un círculo pequeño a la izquierda del texto. El texto está centrado y organizado en líneas con guiones bajos para datos a completar.

**SERVICIO MEDICO FORENSE DEL
DISTRITO FEDERAL
SECCION DE LABORATORIOS**

Cadáver de: _____
Av. previa No.: _____ Exp. _____
Productos remitidos: C.G. H.V. O S
VISC. _____
Investigación que se ordena: A L.C. Q.T. H.P. SIDA
Sexo: _____ Edad: _____ RX _____
México, D.F. a _____ de _____ de _____
A solicitud de: _____

Figura 8. Formato de identificación de muestras en el SEMEFO



3.5.3.1. ANÁLISIS TOXICOLÓGICO

Al ingresar las muestras al laboratorio, el químico debe realizar el o los análisis que le solicite, el médico forense, que realizó la necropsia, reportando datos confiables para complementar el dictamen final, en el caso de los análisis toxicológicos se da a conocer si el cuerpo, estaba o no bajo los influjos de drogas al momento de fallecer, posteriormente se realiza la cuantificación de los metabolitos en sangre, hígado y orina, que son las muestras de uso común post-mortem en el SEMEFO, por lo que los resultados en estas muestras son confiables para identificar la presencia de drogas de abuso.²⁶

Existen ocasiones en las que el químico se ve en la problemática de buscar una muestra adecuada para realizar el estudio toxicológico, ya que no cuenta con las muestras de uso común debido a contaminaciones, por traumatismos intensos en el cuerpo, los cuales provocan la pérdida de las muestras de interés, tal es el caso de personas atropelladas, muertas a causa de una explosión, heridas por arma blanca, arma de fuego o que sus cuerpos fueron encontrados en estado de descomposición teniendo que utilizar otra muestra biológica: cabello, saliva, sudor, leche materna, fluido amniótico, tejido cerebral e hígado.¹³

Además de las muestras biológicas mencionadas anteriormente se han realizado ensayos en humor vítreo, una muestra libre de contaminantes que ayuda a identificar la presencia de etanol y detectar algunas drogas de abuso, entre las que se encuentra la cocaína y sus metabolitos, dando una visión mas clara sobre la muerte del individuo.²⁸

3.5.3.2. ANÁLISIS DE COCAÍNA

Obtenida la muestra de estudio se realiza un análisis, utilizando la técnica de inmunoanálisis en cualquiera de sus formas es decir, radioinmunoanálisis (RIA) ó Ensayo Inmunoenzimático Múltiple (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (EMIT)) bajo ciertas condiciones de manejo, para algunos laboratorios este análisis es suficiente, pero en ocasiones es necesario un segundo análisis, donde se emplean técnicas como la Cromatografía de Gases (GC) y/o Cromatografía de



Gases acoplado a un detector Selectivo de Masas (GC-MS), siendo una técnica de análisis muy usada debido a la versatilidad, funcionalidad, a sus características o cualidades intrínsecas, a los resultados analíticos que se obtienen y a su alta especificidad.²⁹

3.5.4. MUESTRAS BIOLÓGICAS

Las muestras extraídas del cuerpo son colocadas en recipientes adecuados, limpios y secos, las muestras líquidas (sangre y orina) se colocan en tubos de plástico cerrados herméticamente. Las muestras sólidas (hígado) se colocan en tarros de plástico cerrados. Tanto tubos como tarros van correctamente etiquetados y se guardan a una temperatura de entre 3 - 4°C, después de ser analizadas las muestras son almacenadas durante 3 meses.³⁰

3.5.4.1. ORINA

La orina es un líquido acuoso translucido y ligeramente amarillo, de olor característico, secretado por los riñones y eliminado al exterior por el aparato urinario.

Mide el consumo de drogas de abuso de 3 a 5 días. Puede detectar una dosis única de una droga, pero no su uso crónico.²⁹

La cocaína es metabolizada, principalmente en el hígado y en la sangre, por esterasas. El 1,0% de la cocaína, es excretado por orina sin ningún cambio.

La benzoilecgonina es el metabolito de mayor concentración encontrado en la orina (40,0% de la dosis). Posteriormente del 22,0 – 35,0% de la dosis excretada es ecgonina metil ester y de un 2,0 - 3,0% se encuentra la ecgonina.³¹

Tras aspirar una dosis de 1,5 mg de cocaína/Kg de peso, la cocainuria máxima se encuentra en las primeras dos horas y después disminuye rápidamente, aunque continua siendo detectable durante las 48 horas siguientes a la aspiración.³² Se ha reportado que durante unas horas puede hallarse cocaína en la orina a pesar de haber desaparecido a nivel sanguíneo.³³



Jufer y cols. reportaron una semivida de $4,1 \pm 0,9$ horas para la fase aguda de la eliminación de la cocaína urinaria, al investigar los efectos de la administración oral crónica de cocaína a seis personas sanas.³⁴

3.5.4.2. SANGRE

La sangre, es un fluido fundamental para la investigación toxicológica, es utilizada para el análisis de tóxicos ácidos y neutros, cuyas concentraciones en caso de intoxicación son elevadas, así como para el estudio de gases y sustancias volátiles. Mide el consumo inmediato de drogas de abuso (unas horas después de haber consumido las drogas).

Tiene como desventaja que la vida media de algunas drogas es muy corta, por lo tanto, sólo sirve para averiguar si la persona ha consumido drogas, a partir de algunas horas.

En estudios realizados por Drummer y Gerostamoulos recomiendan³⁵ usar sangre de la vena femoral para los análisis toxicológicos, ya que reportan concentraciones similares a las existentes en el momento de la muerte, en cambio la sangre proveniente de las venas del corazón, muestran concentraciones elevadas haciéndola una muestra inapropiada para el análisis cuantitativo, debido a las variaciones que presenta en comparación con la sangre proveniente de la vena femoral.^{34, 35}

3.5.4.3. HÍGADO

La cocaína es un agente hepatotóxico (daño en las estructuras que conforman al hígado) que induce la muerte celular en el interior del ancino hepático, a través de la formación de metabolitos activos, productos de su oxidación, que son los verdaderos responsables de su toxicidad.³⁶ Al llevarse a cabo el metabolismo de la droga, se vuelve una muestra factible y de gran uso en el área forense empleándola en ausencia de orina o sangre.



3.5.4.4. HUMOR VÍTREO

El humor vítreo es una estructura gelatinosa que se mantiene unida por una fina red fibrilar (tejido intraocular) compuesta fundamentalmente por largas moléculas de proteoglucanos, es un fluido biológico, de consistencia semisólida transparente que rellena la cámara ocular situada entre el cristalino y la retina (Figura 9). Está constituido por un gel de mucoproteínas (polímetro de ácido hialurónico y albúmina), ocupa dos terceras partes del globo ocular, no presenta cambios post-mortem evitando la desnaturalización de la muestra así como la disminución o degradación de la droga y no se contamina fácilmente, lo que permite emplearlo como un fluido alterno.³⁷

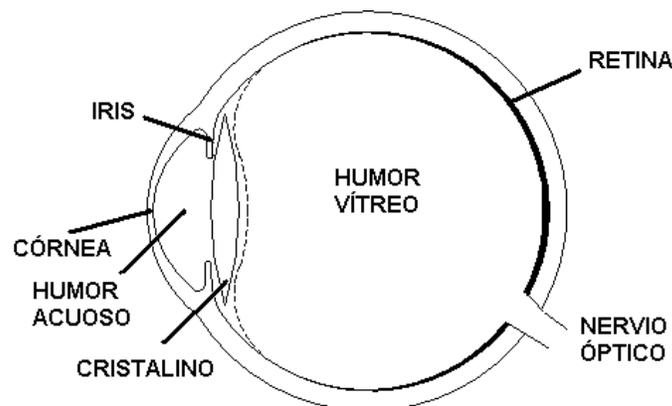


Figura 9. Estructura de la esfera ocular

Mackey-Bojack y cols.³⁸ analizaron muestras de 62 cadáveres para estudiar la utilidad del humor vítreo como espécimen para cuantificar cocaína y sus metabolitos. Las concentraciones de cocaína en humor vítreo y en sangre fueron estadísticamente no significativas, dentro de su variabilidad.

McKlinney y cols.³⁹ estudiaron los cambios post-mortem de la concentración de cocaína en cerdos. Les inyectaron cocaína intravenosa y cinco minutos después los mataron. En ese momento y de nuevo ocho horas después tomaron muestras de sangre de vena femoral y del humor vítreo. Aunque no aumentaron significativamente con el tiempo las concentraciones medias de cocaína, si existió



una gran variabilidad en la dirección y en la magnitud de los cambios en cada animal.^{38, 39}

El humor vítreo es considerado una muestra que ayuda a identificar la presencia de etanol, y detectar algunas drogas, dando una visión más clara sobre la muerte del individuo. Honey, Caylor, Luthi y Kerrigan,⁴⁰ cuantificaron la concentración de alcohol, en sangre y humor vítreo mediante cromatografía de gases acoplado a un detector de ionización de flama (GC-FID), obteniendo concentraciones superiores en humor vítreo que en sangre en un 71,0%; concentraciones superiores en sangre que en humor vítreo en un 27,0% y concentraciones similares en un 5,0%. Estas variaciones son a causa del lugar donde se obtuvo la muestra sanguínea, las obtenidas de la vena femoral reportan los datos que más se aproximan a la concentración de humor vítreo. Chronister, Walrath y Goldberger,⁴¹ realizaron análisis inmunoenzimáticos en sangre de la vena femoral y humor vítreo detectando la BE como principal metabolito, realizando un análisis mediante GC-MS. Reportando al humor vítreo como un buen espécimen para la detección de cocaína. De acuerdo a lo anterior, el humor vítreo puede ser una alternativa en el SEMEFO del DF para llevar a cabo los análisis de detección y cuantificación de la cocaína y sus metabolitos.

Los alcaloides penetran las estructuras del ojo mediante diversas vías entre ellas la sistémica, atravesando la barrera ocular y penetrando dentro del globo llegando a actuar sobre estructuras internas del mismo, la barrera está constituida por la pared de los vasos sanguíneos y varias capas de tejido ocular. La droga se va a difundir en el vítreo y puede ser eliminada con el drenaje acuoso del ojo a través de la cámara posterior o por transporte activo a través de la retina.^{27, 42} Con el envejecimiento normal, o por alguna patología, el humor vítreo se licua, formándose masas o filamentos de gel compacto, siendo de utilidad para los fines toxicológicos. No es una muestra que se contamina fácilmente con otros fluidos ni en el proceso de embalsamamiento, su descomposición es más tardada, según las condiciones ambientales a las que este expuesto el cuerpo.



4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El químico forense realiza análisis toxicológicos post-mortem en muestras de cadáveres que ingresan al Servicio Médico Forense y presentan muertes violentas, dudosas o desconocidas; con la finalidad de auxiliar y apoyar al médico forense que realizó la necropsia, para dictaminar de manera concreta y confiable la causa de muerte.

Pero existen ocasiones en las que el cuerpo fue mutilado o simplemente sometido a múltiples factores ambientales, que no permiten el empleo de las muestras de uso común. En estos casos el químico se ve en la necesidad de solicitar otra muestra biológica, o anulan el estudio.

Por tal razón es necesario contar con muestras biológicas alternas, que sean confiables, así el químico forense podrá realizar de manera satisfactoria el análisis toxicológico, con la finalidad de emitir un resultado certero para el apoyo en la realización del dictamen final que tendrá un peso legal en el Juzgado de Procedimientos Penales.

Es por eso que se propone el empleo del humor vítreo, como muestra biológica alterna a las de uso común, ya que se encuentra aislada por la cámara ocular, no permitiendo contaminaciones y además no presentando cambios post mortem; esta muestra se puede emplear en la detección y cuantificación de benzoilecgonina. Al tener una muestra alterna para el análisis toxicológico post-mortem el químico forense tendrá una opción alterna a las muestras de uso común y realizará el análisis toxicológico de benzoilecgonina, que es el principal metabolito de degradación de la cocaína, de manera confiable.



5. OBJETIVOS

Ofrecer una alternativa al químico forense en la elección de muestras biológicas cuando se requiera un análisis toxicológico de benzoilecgonina como principal metabolito de la cocaína.

Determinar si el humor vítreo es una muestra biológica adecuada, en el análisis toxicológico de benzoilecgonina como principal metabolito de la cocaína.

Realizar un comparativo entre las medias de las concentraciones obtenidas de benzoilecgonina, de sangre, hígado, orina y humor vítreo.



6. HIPOTESIS

Tomando en cuenta la degradación de la cocaína y su distribución en el organismo, suponemos que las concentraciones de benzoilecgonina encontradas en el humor vítreo serán similares a las encontradas en las muestras de uso común.



7. METODOLOGÍA

7.1. MATERIAL

- Máscara antigases con cartucho No 42 para vapores orgánicos y gases ácidos
- Zapatos antiderrapantes
- Jeringas estériles con aguja 21GX32 mm de 5 mL
- Puntas de pipeta 2-200 μ L
- Contenedores de plástico con tapa de 10 mL
- Tubo de centrifuga tapa a rosca con punta cónica de 15 mL
- Soporte universal con base plana
- Pinza de tres ramas con nuez de sujeción
- Aro para soporte cerrado
- Micropipeta 10/100 μ L Labnet Autoclave
- Gradilla para tubos de ensayo de 13x100 mm
- Tubos de ensayo 13X100 mm
- Embudos de separación 150-250 mL
- Termómetro estándar de varilla de 0/150
- Papel pH 0-4 Universalindikator Merk
- Baño maría

7.1.1. EQUIPO E INSTRUMENTOS

- Viva/v-twin Solaris Syva[®] company EUA
- Cromatógrafo de Gases acoplado a un detector Selectivo de Masas Agilent[®] technologies 6890n/ Agilent[®] Technologies 5973network, Alemania
- Incubadora Multi-Blok Heater LAB-LINE
- Centrifuga SOL-BAT J-300
- Parrilla de agitación y calentamiento Termoline Type 1000 Stir plate



- Vortex Labnet VX100
- Balanza OHAUS CS200 Capacity 200gX0.1g

7.1.2. SUSTANCIAS

- Etanol Absoluto
- Metanol Analítico 98,8% pureza CAS No 67-56-1 USA
- Cloroformo Analítico 99,8% pureza CAS No 67-66-3 MEX
- Agua destilada
- Ácido clorhídrico Reactivo 36,5-38,0% pureza
- Ácido nítrico Reactivo 70,2% pureza
- Ácido tricloroacético Reactivo 10,0% pureza
- Hidróxido de amonio Reactivo 28,2% pureza
- Acetonitrilo HPLC/Espectrofotometría 99,9% pureza CAS No 75-05-08
- Hipoclorito de sodio al 10,0% pureza

7.1.3. REACTIVOS

- Emit[®] II Plus cocaine metabolite assay Syva USA
- Emit[®] calibrator/control Level 0 (negative)
- Emit[®] calibrator/control Level 2
- Emit[®] calibrator/control Level 3
- Emit[®] calibrator/control Level 4
- Emit[®] calibrator/control Level 5
- Derivatizante BSTFA + 1,0% TMCS, 10X1mL ampula ALLTECH

7.2. DISEÑO DEL ESTUDIO

7.2.1. TIPO DE ESTUDIO

Observacional, prolectivo, transversal y comparativo.



7.2.2. POBLACIÓN

Cadáveres de sexo indistinto con edad de entre 20 y 40 años, relacionados con muertes violentas.

7.2.3. VARIABLES

Independiente: Edad y muestras de extracción.

Dependiente: Concentración de benzoilecgonina.

7.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon la media (\bar{x}) y la desviación estándar (DE). Se realizó una comparación mediante ANOVA de un factor con prueba de Tukey como complemento.

Se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

7.3. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

7.3.1. ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO MULTIPLE

Para el análisis de la muestra, se emplea la técnica de EMIT para detectar la presencia de benzoilecgonina, principal metabolito de la cocaína, la cual se basa en la competencia entre la droga en la muestra y la droga marcada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenada (G6P-DH) por los lugares de unión del anticuerpo.⁴³

La actividad disminuye cuando la enzima se une al anticuerpo, y así la concentración de drogas en la muestra puede medirse en base a la actividad enzimática.

La enzima activa transforma la nicotinamida-adenin dinucleotido (NAD) en nicotinamida-adenin dinucleotido reducido (NADH), lo que causa un cambio en la absorbancia que puede medirse espectrofotométricamente.^{28, 44}



La G6P-DH sérica endógena no interfiere porque la coenzima funciona solo con la enzima bacteriana (*Leuconostoc mesenteroides*), que se emplea en el análisis.⁴⁴

Con soluciones de concentraciones conocidas del metabolito de cocaína se obtendrá una curva de calibración y por medio de la interpolación, se obtendrá la concentración en base a la absorbancia correspondiente.

El fluido se estudiará con el instrumento Viva-twin Solaris Syva[®], para saber si presenta el metabolito en la cantidad deseada, se tomará como línea de corte 150 ng/mL, con base en los metabolitos en estudio.⁴⁵ La curva de calibración se obtendrá de soluciones de concentraciones conocidas del metabolito, para luego obtener la absorbancia que necesitamos para el diseño de la curva de calibración.

7.3.1.1. SANGRE

Colocar en un tubo para centrifuga previamente identificado una alícuota de sangre y etanol 1:2, colocar en el vortex el tubo durante 5 minutos, centrifugar durante 5 minutos a 3 500rpm, separar el sobrenadante. Colocar el sobrenadante en una copilla e introducir al instrumento.⁴⁶

7.3.1.2. ORINA

Identificar la muestra, si se observa turbia centrifuga durante 5 minutos a 3 500rpm y separar el sobrenadante, de lo contrario colocar directamente la muestra en la copilla e introducir al instrumento.⁴⁶

7.3.1.3. HÍGADO

Seccionar 1,0 g de la muestra y colocar en un tubo para centrifuga previamente identificado, el resto selle y guarde en refrigeración. Agregar al tubo con la muestra 2,0 mL de etanol, colocar en el vortex el tubo durante 5 minutos, centrifugar durante 5 minutos a 3 500rpm, separar el sobrenadante. Colocar el sobrenadante en una copilla e introducir al instrumento.⁴⁶



7.3.1.4. HUMOR VÍTREO

Obtenga la muestra (Anexo 13.2).

Identificar la muestra, si se observa turbia centrifuga durante 5 minutos a 3 500rpm y separar el sobrenadante, de lo contrario colocar directamente la muestra en la copilla e introducir al instrumento.⁴⁶

7.3.2. EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO*

*Se realiza si es solicitada por el Juzgado de lo Penal.

Cuando los fluidos de estudio, presentan un perfil positivo a la droga de abuso analizada por EMIT, se realiza un proceso utilizando la técnica de extracción líquido-líquido (Figura 10), para obtener el sustrato que posteriormente se analizará mediante el GC-MS.⁴⁷



Figura 10. Proceso de extracción en las instalaciones del SEMEFO

7.3.2.1. SANGRE

Colocar 5,0 mL de sangre en un vaso de precipitados y añadir 10,0 mL de ácido tricloroacético al 25,0% y 10,0 mL de agua, agitar durante 5 minutos. Colocar en tubos y centrifugar a 3 500rpm durante 5 minutos. Separar el sobrenadante y alcalinizar con 1,0 mL de hidróxido de amonio (NH_4OH). Transferir el suero



alcalinizado a un embudo de separación, realizar 3 lavados de 15,0 mL cada uno con cloroformo-etano 4:1, separar la fase orgánica y evaporar casi a sequedad a 60°C mediante baño maría.⁴⁷

7.3.2.2. ORINA

Agregar una proporción 2:1 muestra-agua y 3,0 mL de ácido tricloroacético 10,0% agitar la muestra en el vortex 5 minutos, colocar en tubos y centrifugar a 3 500rpm durante 5 minutos. Separar el sobrenadante y alcalinizar con 1,0 mL de hidróxido de amonio (NH₄OH). Transferir el suero alcalinizado a un embudo de separación, realizar 3 lavados de 15,0 mL cada uno con cloroformo-etano 4:1, separar la fase orgánica y evaporar casi a sequedad a 60°C mediante baño maría.⁴⁷

7.3.2.3. HÍGADO

Colocar 5,0 g de muestra previamente macerada en un vaso de precipitados y añadir 10,0 mL de ácido tricloroacético al 25,0% y 10,0 mL de agua, agitar durante 5 minutos. Colocar en tubos y centrifugar a 3 500rpm durante 5 minutos. Separar el sobrenadante y alcalinizar con 1,0 mL de hidróxido de amonio (NH₄OH). Transferir el suero alcalinizado a un embudo de separación, realizar 3 lavados de 15,0 mL cada uno con cloroformo-etano 4:1, separar la fase orgánica y evaporar casi a sequedad a 60°C mediante baño maría.⁴⁷

7.3.2.4. HUMOR VÍTREO

Agregar una proporción 2:1 muestra-agua y 3,0 mL de ácido tricloroacético 10,0% agitar la muestra en el vortex 5 minutos, colocar en tubos y centrifugar a 3 500rpm durante 5 minutos. Separar el sobrenadante y alcalinizar con 1,0 mL de hidróxido de amonio (NH₄OH) obteniendo un pH de 9-10. Transferir el suero alcalinizado a un embudo de separación, realizar 3 lavados de 15,0 mL cada uno con cloroformo-etano 4:1 evitar emulsificaciones, separar la fase orgánica y evaporar casi a sequedad (50-70 µL) a 60°C mediante baño maría.⁴⁷



7.3.3. CROMATOGRAFÍA DE GASES SELECTIVO A MASAS*

*Se realiza si es solicitada por el Juzgado de lo Penal.

Al efectuar el análisis con la Técnica de Ensayo Inmunoenzimático Múltiple y al obtener un resultado positivo, si el juzgado lo solicita se procedera a realizar un análisis a través de la técnica de Cromatógrafo de Gases acoplado a un Detector Selectivo de Masa (GC-MS). Empleando la espectrometría de masas que está relacionada con la producción de iones y la fragmentación de las moléculas, así como la determinación de las razones masa/carga (m/z) y la abundancia relativa de los iones producidos. Por lo tanto se relaciona con una propiedad fundamental de la materia, al saber, la verdadera composición molecular, más que con la absorción o emisión de luz.⁴⁸

Los grupos funcionales de una molécula determinan la fragmentación, de manera que conociendo la estructura de la molécula, es posible predecir el patrón de fragmentación.

Además, la técnica permite detectar el peso molecular, lo que contribuye a la información más valiosa del espectro de masas.

Estos metabolitos para ser detectados por el GC-MS, se deben apoyar en otra técnica, que se llama derivatización o silanización.^{28, 48}

Existen en el mercado una gran cantidad de derivatizantes entre los que se encuentran el Trimetilsilil-trifluoroacetamina (BSTFA N,O-BIS) con 1,0 % de Clorotrimetilsilano (TMCS), su función principal se basa en los grupos silanos que están presentes en el derivatizante, estos se enlazan con los grupos funcionales polares (hidrógenos activos) y los grupos carboxílicos que están presentes en los metabolitos.⁴⁹

El objetivo del enlace es mejorar su estabilidad térmica y aumentar la sensibilidad de estos metabolitos, pero lo más importante es la producción de la elución del metabolito en el GC-MS, para poder confirmar su presencia en las matrices biológicas estudiadas.⁵⁰

En el cuadro 3 se observa la selección de iones de los metabolitos de la cocaína, sus patrones de relación m/z y el tiempo de retención aproximado, utilizando el



BSTFA N,O-BIS como derivatizante. Al no contar con estándares deuterados de los metabolitos anteriormente descritos, se apoyara con la base de datos de las bibliotecas Wiley 275 y NIST, integradas en el software del GC-MS

Cuadro 3. Selección de iones y tiempo de retención⁵⁰

COMPONENTES ¹	IONES ² (m/z)	IONES DE ESTÁNDAR INTERNO (m/z)	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)
AEME	152 / 166 / 181	-	5,95
EME	96 / 82 / 271	99 / 85 / 274	7,07
COC	182 / 82 / 303	185 / 85 / 306	9,09
CE	196 / 82 / 317	199 / 85 / 320	9,26
BZE	240 / 82 / 361	243 / 85 / 364	9,30

1 Abreviaturas: AEME metilester anhidroecgonina; EME metilester ecgonina; COC cocaína; CE cocaetileno; BZE benzoilecgonina

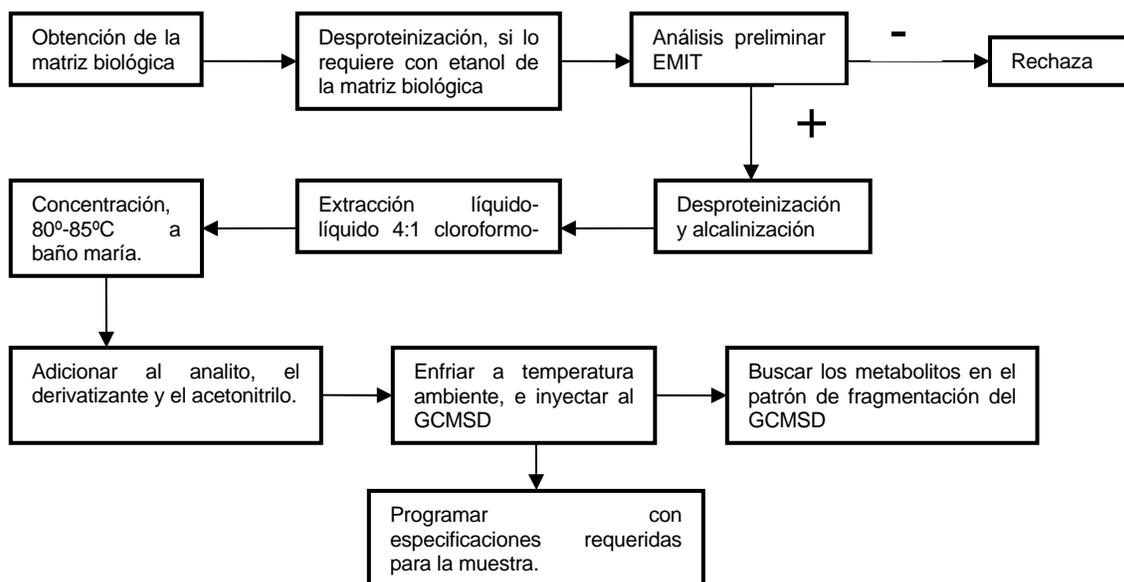
2 Iones en negrillas serán empleados para la cuantificación

Para la confirmación de los metabolitos en caso de ser solicitados por el juzgado penal, se utilizará la técnica GC-MS, el cromatógrafo de gases que se empleará en el estudio es Agilen[®] Technologies Modelo 6890 acoplado a un detector selectivo de masa modelo 5973 Network.⁵¹

Adicionar 50,0 µL de acetonitrilo y 50,0 µL de derivatizante BSTFA/TMCS 1,0% a la muestra previamente extraída y se incubaba a 60,0°C durante 20 minutos, pasado el tiempo se dejar enfriar y se inyectan (manual o automática) 2µL de la muestra procesada en el GC-SM. Realizar la búsqueda de los principales metabolitos apoyándose en la librería contenida en el sistema.^{31, 52}



DIAGRAMA DE FLUJO DEL ANÁLISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE USO COMÚN Y DEL HUMOR VÍTREO.



CRONOGRAMA

ACTIVIDADES A DESARROLLAR	2007					2008							
	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO
Investigación bibliografía	X	X	X	X	X								
Solicitud de muestras	X							X					
Selección y toma de muestra	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Pruebas presuntivas		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Análisis y comparación de resultados		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Extracciones		X	X				X	X			X	X	
Pruebas confirmativas				X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Análisis de cromatogramas		X	X		X	X			X	X			X



ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

DISEÑO DEL ESTUDIO

TIPO DE ESTUDIO

Observacional, prolectivo, transversal y comparativo.

POBLACIÓN

Cadáveres de sexo indistinto con edad de entre 20 y 40 años, relacionados con muertes violentas.

VARIABLES

Independiente: Edad y muestras de extracción.

Dependiente: Concentración de benzoilecgonina.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon la media (\bar{x}) y la desviación estándar (DE). Se realizó una comparación mediante ANOVA de un factor con prueba de Tukey como complemento.

Se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.



8. RESULTADOS

Se realizó una curva de calibración del V-Twin, utilizando los Calibradores/Controles Emit[®] con el fin de relacionar la señal analítica obtenida espectrofotométricamente con la concentración de benzoilecgonina, analito en las soluciones analizadas.

La concentración de la muestra incógnita se obtuvo por interpolación gráfica a partir de una curva de señal (Figura 11), obtenida con cinco estándares adecuadamente espaciados, que cubrían el ámbito de las concentraciones obtenidas.

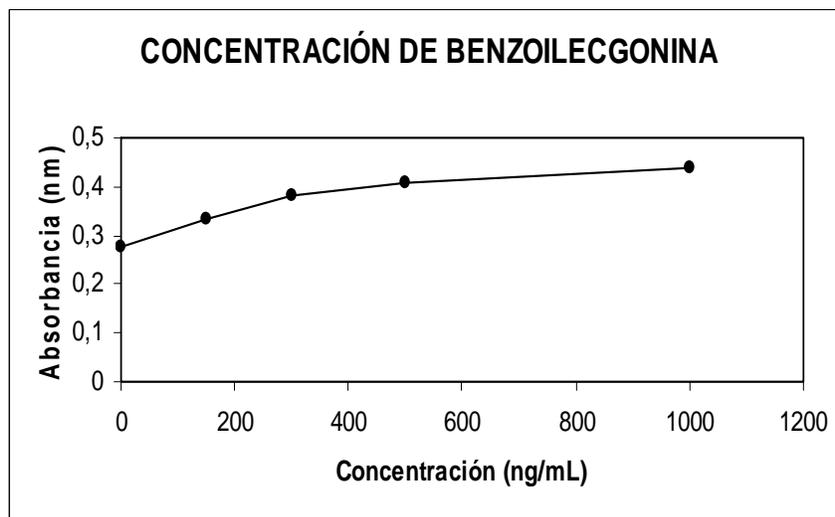


Figura 11. Curva de calibración de V-Twin

Se emplearon los siguientes calibradores, recomendados y entregados por el proveedor (Dade Behring Inc.):

- 9A509UL Nivel 0 (0 ng/mL)
- 9A549UL Nivel 2 (150 ng/mL)
- 9A569UL Nivel 3 (300 ng/mL)
- 9A589UL Nivel 4 (500 ng/mL)
- 9A609UL Nivel 5 (1000 ng/mL)



Con base en esta curva se analizaron 117 muestras, positivas a la presencia de benzoilecgonina, tomando como punto de corte 150 ng/mL⁴⁵ que corresponde a 0,335 nm de longitud de onda.

Dade Behring Inc. ha validado el uso de los reactivos en diversos analizadores para optimizar el rendimiento del producto y cumplir las especificaciones del mismo.

De cada cadáver se trató de extraer humor vítreo, orina, sangre e hígado, pero en algunos casos esto no fue posible, ya que los cuerpos no se encontraban en condiciones favorables para su extracción (Cuadro 4).

Cuadro4. Número de muestras obtenidas de 35 cuerpos.

Muestra	No de muestras
Humor vítreo	33
Orina	29
Sangre	27
Hígado	28

En el cuadro 4 se observa que el humor vítreo presentó el mayor número de muestras obtenidas de un total de 35 cuerpos, obteniendo 33 muestras positivas a la presencia de cocaína lo que equivale a un 94.28%, como grupo de menor número de muestras está la sangre que presenta 27, lo que equivale a un 77,14%.

Cabe señalar que únicamente se seleccionan los datos que se encontraron por arriba del punto de corte y que por consiguiente se consideran positivas a la presencia de benzoilecgonina, en el análisis toxicológico.

En el Cuadro 5, se reportan estas concentraciones de benzoilecgonina obtenidos mediante EMIT, en el SEMEFO del DF, con la finalidad de realizar un estudio estadístico.



Cuadro 5 Concentraciones benzoilecgonina de las matrices biológicas

Humor vítreo ng/mL	Orina ng/mL	Sangre ng/mL	Hígado ng/mL
550	1000	258	600
710	1000	470	1000
1000	591	610	1000
1000	1000	500	620
1000	1000	440	1000
291	1000	151	307
713	1000	469	1000
487	1000	1000	435
571	1000	248	287
493	1000	493	1000
563	1000	374	474
1000	1000	440	563
351	1000	195	351
248	1000	615	154
1000	670	303	1000
1000	555	260	1000
1000	1000	171	324
658	506	337	440
291	154	555	1000
1000	1000	487	751
1000	1000	730	1000
1000	1000	513	1000
346	1000	324	191
307	1000	1000	1000
1000	1000	241	1000
1000	1000	1000	267
388	1000	646	1000
1000	1000		1000
1000	526		
1000			
457			
1000			
1000			



Los datos se analizaron empleando análisis de varianza (ANOVA) de un factor, observando la diferencia entre las medias de concentración de benzoilecgonina de los cuatro grupos.⁵³

Cuadro 6. Datos generales de estadística descriptiva.

Concentraciones	$\bar{X} \pm DE$
Humor Vítreo (n=33)	740,12 \pm 291,64
Orina (n=29)	896,62 \pm 219,47
Sangre (n=27)	475,18 \pm 242,37*
Hígado (n=28)	705,85 \pm 323,09

*ANOVA con prueba de Tukey como posthoc $p < 0.05$

En el cuadro 6 se encuentran el total de muestras analizadas, seleccionadas según el tipo de matriz biológica, al analizar el promedio de cada una, puede observarse que existe una similitud entre humor vítreo e hígado, la orina reporta los valores mas altos y la sangre reporta los datos mas bajos; esto en relación a las cuatro muestras.

En base a los datos estadísticos obtenidos (Anexo 13.3), se estableció la significancia estadística, al observar en la tabla que el valor crítico para F es menor al valor de la F calculada, descartando la hipótesis nula (H_0), y aceptando la hipótesis alterna (H_a).

Al encontrar que existen diferencias entre las medias de los grupos, es importante determinar qué grupo o grupos en particular son diferentes, con la finalidad de conocer la similitud o diferencia que existe entre las concentraciones de cada una de las muestras analizadas.

Nuevamente se propone una hipótesis nula, donde los promedios de las concentraciones de benzoilecgonina son iguales ($H_0: \mu_3 = \mu_4 = \mu_1 = \mu_2$) y una hipótesis alterna donde el promedio de las concentraciones de benzoilecgonina son diferentes $H_a: \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_1 \neq \mu_2$ (Anexo 13.4).



Se realizó una comparación entre los valores de la q calculada y la q de tablas, al ser la q calculada mayor a la q de tablas la hipótesis nula se rechaza y al ser la q calculada menor a la q de tablas la hipótesis nula se acepta.

De los datos anteriores se obtiene el siguiente resultado $\mu_3 \neq \mu_4 = \mu_1 = \mu_2$.

Donde el número 3 corresponde a la sangre, el 4 al hígado, el 1 al humor vítreo y el 2 a la orina.



9. DISCUSIÓN

El análisis toxicológico es un estudio de gran importancia y utilidad en el ámbito legal, ya que permite establecer conclusiones confiables en el esclarecimiento de la causal de muerte en individuos que están relacionados con hechos ilícitos o situaciones violentas que se relacionan con el consumo de estupefacientes.

Por tal razón se realizó un estudio comparativo entre cuatro matrices biológicas; con el fin de analizar los promedios de las concentraciones de benzoilecgonina presentes en humor vítreo, hígado, sangre y orina; mediante V-Twin un equipo al cual se le realizó un proceso de calibración para benzoilecgonina, mediante calibradores control, provenientes de Dade Behring Inc. proporcionando un método de referencia.

Con base en la curva de calibración se obtuvieron las concentraciones de benzoilecgonina, en cada muestra, los datos que se obtuvieron mostraron similitudes en los valores promedio para las muestras de orina e hígado lo cual es concordante con los datos reportados por Shimomura et al.⁵⁵ donde los valores promedio de orina e hígado en función a las concentraciones de benzoilecgonina son parecidas, al igual que las reportadas en sangre.

Por su parte, en el estudio realizado dentro de las instalaciones del SEMEFO, el promedio para las concentraciones en sangre mostró valores considerablemente inferiores, pues la sangre postmortem tiende a aumentar la concentración del toxico debido a la liberación de este en algunos organos²⁷, esperando concentraciones mayores a las obtenidas. Lo anterior puede deberse a la falta de un conservador que ayude a mantener estables los cambios que genera la muestra, ayudando a detener la degradación de la molécula de benzoilecgonina, por ejemplo el uso de fluoruro de sodio (NaF) al 1,0 % que inhibe la fermentación bacteriana⁵⁶ evitando la modificando el pH de la muestra.

Otro factor que promueve la degradación de la molécula es el cambio de temperatura y la degradación enzimática, generando que la concentración de benzoilecgonina se encuentre en menor proporción. Por tal motivo es recomendable el empleo de un conservador que mantenga integra la muestra el



mayor tiempo posible en condiciones adecuadas de almacenamiento, ya que de ante mano se sabe que la sangre es una de las muestras universales que, junto con la orina son empleadas en el análisis toxicológico, debiendo cuidar el tiempo de exposición de las muestras.^{30, 57}

Respecto al humor vítreo, los valores obtenidos no presentan diferencia estadística significativa con relación a los obtenidos por orina e hígado y además son coincidentes con los reportados por Chronister et al.⁴¹ y Bost RO,⁵⁸ donde se estableció que existe una relación importante entre las concentraciones de benzoilecgonina de sangre, orina e hígado y que a su vez se relacionan con los obtenidos por humor vítreo. Ambos autores concuerdan en que el empleo del humor vítreo como muestra alterna resulta ser de gran ayuda al tratar de realizar un reporte toxicológico a la presencia de cocaína, empleando como marcador a la benzoilecgonina.⁵⁰ El humor vítreo es una muestra que requiere de cuidados al momento de su extracción y debe manejarse como un elemento biológico infeccioso.^{24,58} A pesar de reportar datos satisfactorios como muestra alterna, se recomienda el uso simultáneo de otra muestra biológica para realizar de manera satisfactoria el análisis.⁵⁸

El análisis de comparación múltiple mostró igualdad estadística para los promedios de las concentraciones de benzoilecgonina de orina, humor vítreo e hígado, lo cual pone de manifiesto que el humor vítreo es una matriz biológica adecuada y confiable para la detección de cocaína y su principal metabolito de degradación, la benzoilecgonina. Por lo tanto esta muestra será de gran utilidad para el químico forense al tomar una decisión en la elección de muestras biológicas, proporcionando una alternativa confiable al realizar el análisis toxicológico de cocaína. En cuanto a la sangre como matriz biológica, es recomendable el uso de un conservador para asegurar la integridad de la muestra. En algunos casos especiales, el juzgado solicita al químico forense el realizar un análisis confirmativo que corrobore el resultado positivo de una muestra²⁴, en estos casos en el SEMEFO del DF, se realiza un estudio mediante cromatografía de gases selectivo a masa (CG-MS) anexando a su informe los correspondientes



cromatogramas (Anexo 13.5).⁵⁰ Es importante recordar que el análisis inmunoenzimático es suficiente para declarar una muestra positiva a la presencia de la droga de abuso en estudio. Con estos datos fue posible corroborar la presencia de cocaína en cada una de las muestras.⁵⁹



10. CONCLUSIONES

- El humor vítreo es una muestra adecuada para la detección de benzoilecgonina en el análisis toxicológico post-mortem.
- El humor vítreo proporciona resultados estadísticamente no significativos y por lo tanto confiables en comparación con muestras de orina e hígado.
- En el caso de las muestras de sangre, las concentraciones obtenidas sugieren la adición de algún agente conservante con la finalidad de evitar degradación de la misma y un consecuente resultado erróneo.
- Las concentraciones de benzoilecgonina en hígado y orina obtenidas en el presente trabajo son concordantes con las reportadas en estudios previos, por lo que su empleo es una medida adecuada en el análisis toxicológico.



11. PERSPECTIVAS

Se espera que en un futuro no muy lejano se lleve a cabo el empleo del humor vítreo como muestra alterna en el análisis de cocaína, en las instalaciones del servicio Médico Forense del Distrito Federal, ya que en base a este estudio se comprobó que esta muestra es capaz de reportar datos certeros y confiables, en ausencia de las muestras de uso común.

El manejo y almacenamiento de la muestra es similar a las de uso común, puede ser almacenada en la jeringa de extracción previamente sellada o en un micro contenedor de polietileno, durante tres meses después de ser analizada, para previos estudios.

Al contar con esta muestra alterna el químico forense podrá solicitar al encargado de la necropsia el envío de dicha muestra con el fin de apoyar en el dictamen correspondiente a la averiguación previa.



12. REFERENCIAS

1. El concepto de droga y drogodependencia. En: Becoña IE, Vázquez GF. Heroína, cocaína y drogas de síntesis. España: Síntesis; 2001. p. 11-32
2. Belsasso G, Estañol B, Juárez H. Nuevas estrategias farmacológicas para el tratamiento de las adicciones. México: CONADIC/SALUD; 2002. p. 17-25
3. Masuda M. Adaptación individual. En: Mandell AJ, Mandell PM. Psicoquímica humana. Barcelona: Fontanella; 1977. p. 67-88
4. Poliano LA, Heras J. Como prevenir el consumo de drogas. 7ª ed. Madrid: Palabra; 2006
5. Córdoba PD, Toledo AD. Cocaína y base de cocaína. "Basuco". En: Córdoba PD, Toledo AD. Toxicología. 3ª ed. Colombia: Medellín; 2006. p. 537-544
6. Monografía patología orgánica en adicciones. [CD-ROM]. Pereiro GC. Versión 2.0. Madrid: adicciones; 2006
7. Encuesta nacional de adicciones 2008. [en línea] 2008 citado [2008]; 1(1):[173] pantallas. Disponible en:
http://www.inprf.org.mx/epidemiologicas/ena_2008/nacional2008.pdf
8. Sistema de vigilancia epidemiológica de las adicciones. [en línea] 2002 citado [2002]; 1(1):[3] pantallas. Disponible en:
<http://www.dgepi.salud.gob.mx/sis/descrip.htm>
9. Encuesta nacional de adicciones 2008, resultados por entidad federativa, Distrito Federal [en línea] 2008 citado [2008]; 1(1):[80] pantallas. Disponible en:
http://www.inprf.org.mx/epidemiologicas/ena_2008/Nuevos/df.pdf
10. Sistema de vigilancia epidemiológica de las adicciones, informe 2008 en el Distrito Federa [en línea] 2008 citado [2009]; 1(1):[13] pantallas. Disponible en:
<http://www.dgepi.salud.gob.mx/sis/sisvea%202008/INFORMES/DF%20cij%20sisvea%202008.pdf>
11. Monografía cocaína. [CD-ROM]. Pascual F, Torres M, Calafat A, Versión 2.0. Madrid: NIDA; 2005
12. Brossi AR. Alkaloids: Chemistry and Pharmacology. New York: Academic Press; 1994



13. Moffat A. Clarke's Analysis of drugs and poisons. London: Pharmaceutical press; 2004. Benzoylecgonine; p. 290, Cocaine; p. 476
14. The merck index. 14^a ed. United States of America: Offices; 2006. Cocaine; p. 412. Benzoylecgonine; p. 184
15. Olaf, H. Drummer PhD, The forensic Pharmacology of Drug of Abuse, London: Arnold; 2001.
16. Lizasoain I, Moro MA, Lorenzo P. Cocaína: Aspectos farmacológicos. Adicciones, 2001; 37:13-2
17. Daniel SI. Cocaine. In: Levine B. Principles of Forensic Toxicology. 2^a ed. Washington: AACCC PRESS; 2003. p. 207-228
18. Westfall Thomas C, Westfall David P. Adrenergic agonists and antagonists. En: Bruton Laurence L, Lazo John S PhD, Parker Keith L PhD. The pharmacological basis of therapeutics. 11^a ed. United States of America: Mc Graw-Hill, Medical Publishing Division; 2005. p. 237-295
19. O'Brien Charles P. Drug addiction and drug abuse. En: Bruton Laurence L, Lazo John S PhD, Parker Keith L PhD. The pharmacological basis of therapeutics. 11^a ed. United States of America: Mc Graw-Hill, Medical Publishing Division; 2005. p. 607-627
20. Giraldo GC. Cocaína base. Aspectos patológicos. En: Córdoba PD, Toledo AD. Toxicología. 3^a ed. Colombia: Medellín; 2006. p. 545-8
21. Giraldo GC. Farmacodependencia. Aspectos médico-legales. En: Córdoba PD, Toledo AD. Toxicología. 3^a ed. Colombia: Medellín; 2006. p. 549-563
22. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Farmacología. 6^a ed. Madrid: Elsevier; 2008.
23. Ortega PA. ¿Estaba intoxicado con cocaína este individuo?. Cuadernos de medicina forense. 2003; 33:1-1
24. Ley 6-13/2007, de 21 de marzo, de Reglamento de Servicio Médico Forense del Tribunal Superior de Justicia del Distrito Federal, (Boletín judicial del D.F., No 58 de 26-03-07)



25. Quiroz CA. Del Servicio Médico Forense. En: Quiroz CA. Medicina forense. 11ª ed. México: Porrúa; 2003. p. 178-244
26. Rodríguez WA, De Rodríguez GB. Fundamentos de derecho penal y criminología. Argentina: Juris; 2001.
27. Gisbert CJ, Villanueva CE, Gisbert GM. Fenómenos cadavéricos. En: Gisbert CJ, Villanueva CE. Medicina legal y toxicología. 6ª ed. Barcelona: Masson; 2004. p.191-213
28. Somoza CO. La muerte violenta inspección ocular y cuerpo del delito. Móstoles: La ley; 2004.
29. Kidwell DA, Sotiris AA. Cocaine: Methods of forensic analysis. In: Smith PF. Handbook of forensic drug analysis. London: Elsevier; 2005. p. 235-273
30. Córdoba EH. Muestras para análisis de toxicología. En: Córdoba PD, Toledo AD. Toxicología. 3ª ed. Colombia: Medellín; 2006. p. 923-925
31. Cone EJ, Sampson-Cone AH, Darwin WD, Huestis MA, Oyler JM. Urine testing for drugs of abuse: Metabolic and excretion patterns following different routes of administration and methods for detection of false-negative results. J Anal. Toxicol. 2003; 27(7):386-401
32. Hamilton HE, Wallace JE, Shimerk E Jr, and P, Harris SC, Christenson JG. Cocaine and benzoylecgonine excretion in humans. J Forensic Sci. 1977 Oct; 22:697-707
33. Ellenhorn MJ, Barceloux DG. Medical Toxicology. New York: Elsevier; 1988
34. Jufer RA, Wstadik A, Walsh S, Evine BS, Cone EJ. Elimination of cocaine and metabolites in plasma, saliva, and urine following repeated oral administration to human volunteers. J Anal. Toxicol. 2000; 24(6):467-77
35. Drummer OH, Gerostamoulos J. Postmortem drug analytical and toxicological aspects. Therapeutic Drug Monitoring 2002; 24:199-209.
36. Rauchmann E, Rosen G, Cavagnaro J. Norcocaine Nitroxide. A potential hepatotoxic metabolite of cocaine. Mol Pharmacol; 21(2):458-63
37. Pulido JS. Retina, Choroid and Vitreous. Union State American: Mosby; 2002



38. Mackey-Bojack S, Kloss J, Aple F. Cocaine, metabolite and ethanol concentrations in postmortem blood and vitreous humor. *J Anal. Toxicol.* 2000; 24(1):59-65
39. McKinney PE, Phillips S, Gomez HF, Brent J, MacIntyre M, Watson WA. Vitreous humor cocaine and metabolite concentrations: do post-mortem specimens reflect blood levels at the time of death? *J Forensic Sci.* 1995; 40(1):102-7
40. Honey D, Caylor C, Luthi R, Kerrigan S. Comparative alcohol concentrations in blood and vitreous fluid with illustrative case studies. *J Anal. Toxicol.* 2005;29(5):365-9
41. Chronister CW, Walrath JC, Goldberger BA. Rapid detection of benzoylecgonine in vitreous humor by enzyme immunoassay. *J Anal Toxicol.* 2001; 25(7):621-4
42. Piña MJ. Administración oftálmica. En: Santos RB, Guerrero AM. Administración de medicamentos: teoría y práctica. Madrid: Díaz de santos; 1994. p. 99-122
43. Saturation analysis: radioimmunoassay and other ligand assays. In: Chamberlain J. The analysis of drugs in biological fluids. 2ª ed. Nueva York: CRC Press; 2000. p. 163-203
44. Oellerich M. Enzyme immunoassays in clinical chemistry: present status and trend. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1980;18:197-208
45. Federal Register, Departmente of Healt and Human Services, 2004. [on line] 2004 [citado 2004]; 1(2):[7] pantallas. Disponible en: [http://www.workplace.samhsa.gov/Drugtesing/Files_Drug_Testing/Federal/HH S%20Mandatory%20Guidelines%20\(Effective%20November%201,%202004\).pdf](http://www.workplace.samhsa.gov/Drugtesing/Files_Drug_Testing/Federal/HH S%20Mandatory%20Guidelines%20(Effective%20November%201,%202004).pdf)
46. Emit II plus Cocaine metabolite assay. USA: Dade Behring; 2006
47. Careaga RL. Manual de procedimientos y análisis para la identificación de tóxicos y metabolitos de drogas de abuso. México: SEMEFO Laboratorio. químico toxicológico;2000



48. Gas Chromatography. In: Chamberlain J. Drugs in biological fluids. 2ª ed. Nueva York: CRC Press; 2000. p. 119-139
49. La espectrometría de masas y la cocaína. [en línea] 2004 citado [2004]; 1(1):[7] pantallas. Disponible en:
<http://www.medicinalegal.gov.co/htdocs/espectometria%20masaspdf>
50. Ragoucy-Sengler A, Kintz P. Detection of smoked cocaine marker (anhydroecgonine methylester) in nails. J Anal. Toxicol. 2005; 29(7):765-8
51. Operación de la chemstation agilent del GC-MSD y del equipo. Alemania: Agilent C.00.00
52. Zumwalt MC, Moore C. Rapid analysis of drug of abuse by LC/triple quadrupole mass spectrometry. Agilent technologies, 2006
53. Marques DSM. Probabilidad y estadística para ciencias químico biológicas. 2ª ed. México: Ideogramma; 2004
54. Zar J. Biostatistical analysis. 5ª ed. USA: Pearson education; 2009
55. Shimomura ET, Hodge GD, Paul BD. Examination of postmortem fluids and tissues for the presence of methylecgonidine, ecgonidine, cocaine, and benzoylecgonine using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Clin Chem. 2001;47:1040-7
56. Scheidweiler KB, Shojaie J, Plessinger MA, Wood RW, Kwong TC. Stability of methylecgonidine and ecgonidine in sheep plasma in vitro. Clin Chem. 2000;46:11, 1787-1795
57. Vallejo RM. Pruebas rápidas para identificación de tóxicos. En: Córdoba PD, Toledo AD. Toxicología. 3ª ed. Colombia: Medellín; 2006. p. 926-928
58. Bost RO. Analytical toxicology of vitreous humor. In: Wong SH, Sushine I. Handbook of analytical therapeutic drug monitoring and toxicology. 2ª ed. Nueva York: CRC Press; 2000. p. 281-304
59. Cone EJ, Yousefnejad D, Dickerson SL. Validity testing of commercial urine cocaine metabolite assays: IV. Evaluation of the EMIT® d.a.u.™ Cocaine metabolite assay in a quantitative mode for detection of cocaine metabolite. J Forensic Sci. 1989; 34(4)

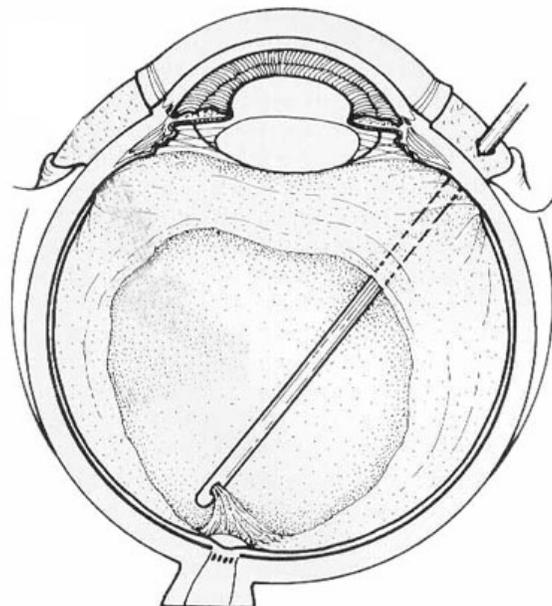


13. ANEXOS

13.1. Estadística de las causas de muerte de los consumidores de cocaína que se estudiaron en este trabajo

Causas de muerte	Casos
Ahorcados	9
Transito vehicular (atropellados)	7
Heridas punzo contundentes	6
Proyectil por arma de fuego	5
Putrefactos	2
Mutilados	3

13.2 Extracción del humor vítreo



Vitrectomía



13.3. Análisis de varianza

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F calculada</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2 529 116,787	3	843 038,929	11,318	1,507 ^{E-06}	2,684
Dentro de los grupos	8 416 593,845	113	74 483,131			
Total	10 945 710,630	116				

$\alpha=0.05/ n=117/ k=1$

En base a los datos estadísticos obtenidos en la tabla anterior, se estableció la significancia estadística, al observar en la tabla que el valor crítico para F es menor al valor de la F calculada, descartando la hipótesis nula (Ho), y aceptando la hipótesis alterna (Ha).

Al encontrar que existen diferencias entre las medias de los grupos, es importante determinar qué grupo o grupos en particular son diferentes, con la finalidad de conocer la similitud o diferencia que existe entre las concentraciones de cada una de las muestras analizadas; y se realizó un análisis de comparación múltiple por la prueba de Tukey para un tamaño de muestras diferentes, con la finalidad de conocer que las variaciones que existen entre las concentraciones de benzoilecgonina de cada grupos.⁵⁴



13.4. Comparación múltiple

Los datos son expresados en ng/mL
 Grupos = 4 N= 117
 $s^2 = \text{error MS} = 74\,483,1314$
 Error DF = 113

Muestra biológica	Sangre	Hígado	Humor vítreo	Orina
Rango de medias por muestras	3	4	1	2
Rango de medias	475,18	705,85	740,12	896,62
Número de muestras	27	28	33	29

Ho: $\mu_3 = \mu_4 = \mu_1 = \mu_2$

Ha: $\mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_1 \neq \mu_2$

Comparación (A _{vs} B)	Diferencias de medias*	Error Estándar	Q	$q_{0.05,113,4}$	Conclusión
2vs3	421,44	51,609	8,166	3,685	Rechaza Ho: $\mu_2 = \mu_3$
2vs4	190,77	51,129	3,731	3,685	Rechaza Ho: $\mu_2 = \mu_4$
2vs1	156,50	49,119	3,186	3,685	Acepta Ho: $\mu_2 = \mu_1$
1vs3	264,94	50,078	5,290	3,685	Rechaza Ho: $\mu_1 = \mu_3$
1vs4	34,27	49,584	0,691	3,685	Acepta Ho: $\mu_1 = \mu_4$
4vs3	230,67	52,051	4,431	3,685	Rechaza Ho: $\mu_4 = \mu_3$

*El rango de la media A menos el rango de la media B

Nuevamente se propone la hipótesis nula, donde el promedio de las concentraciones de benzoilecgonina son iguales (Ho: $\mu_3 = \mu_4 = \mu_1 = \mu_2$) y una hipótesis alterna donde el promedio de las concentraciones de benzoilecgonina son diferentes (Ha: $\mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_1 \neq \mu_2$). La tabla 8.4 reporta las comparaciones que existen entre cada grupo, el número de grupo fue asignado en base al valor de las medias de menor a mayor.

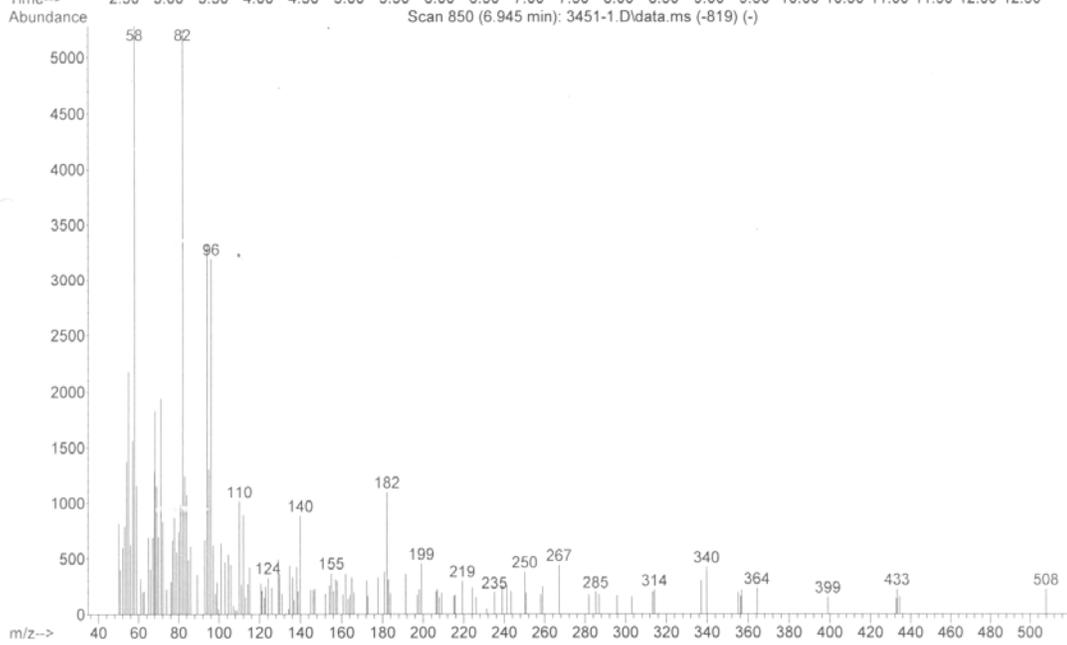
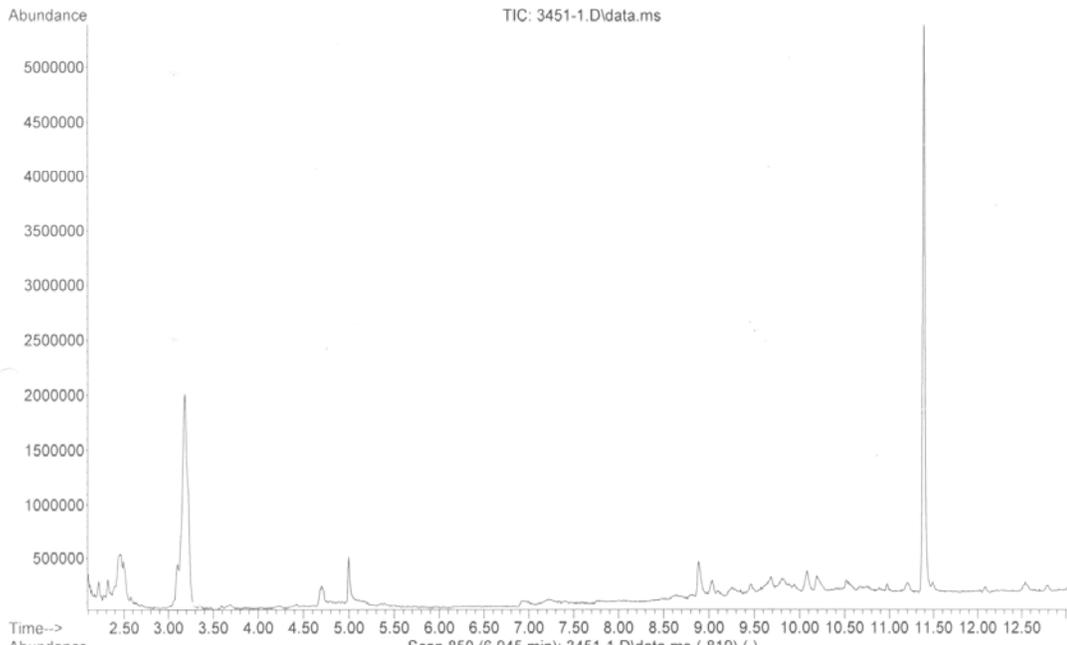
Se realizó una comparación entre los valores de la q calculada y la q de tablas, al ser la q calculada mayor a la q de tablas la hipótesis nula se rechaza y al ser la q calculada menor a la q de tablas la hipótesis nula es aceptada.

De los datos anteriores se obtiene el siguiente resultado $\mu_3 \neq \mu_4 = \mu_1 = \mu_2$.



13.5 Cromatogramas

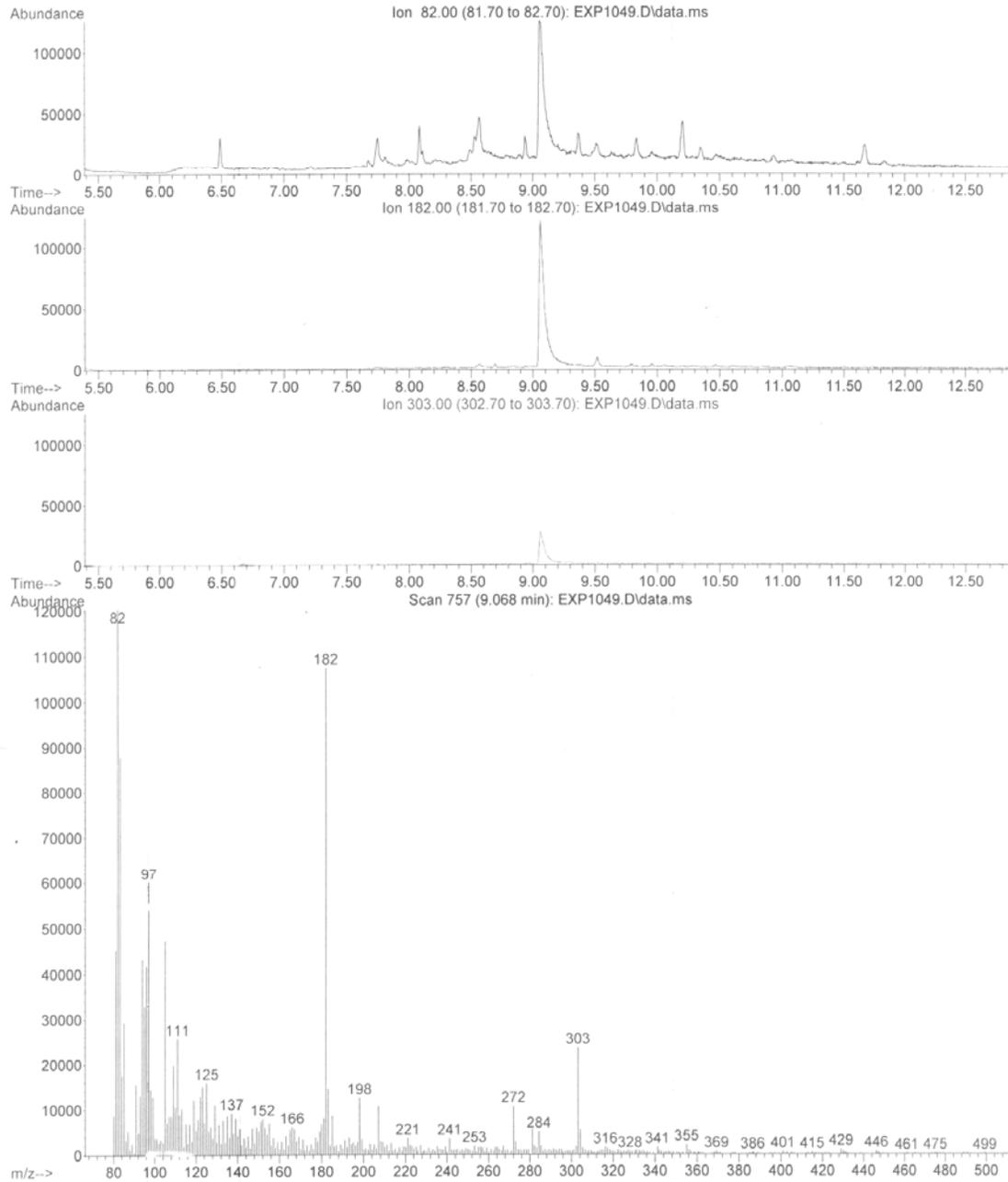
File :C:\msdchem2\1\sequence\UNAM\110
Operator : Q.F.B ORTEGA
Acquired : 3 May 2008 20:09 using AcqMethod HARRY.M
Instrument : Instrument #1
Sample Name: HUMOR VITREO
Misc Info : MUESTRA
Vial Number: 110



Cromatograma correspondiente al expediente 110 realizado en Humor vítreo



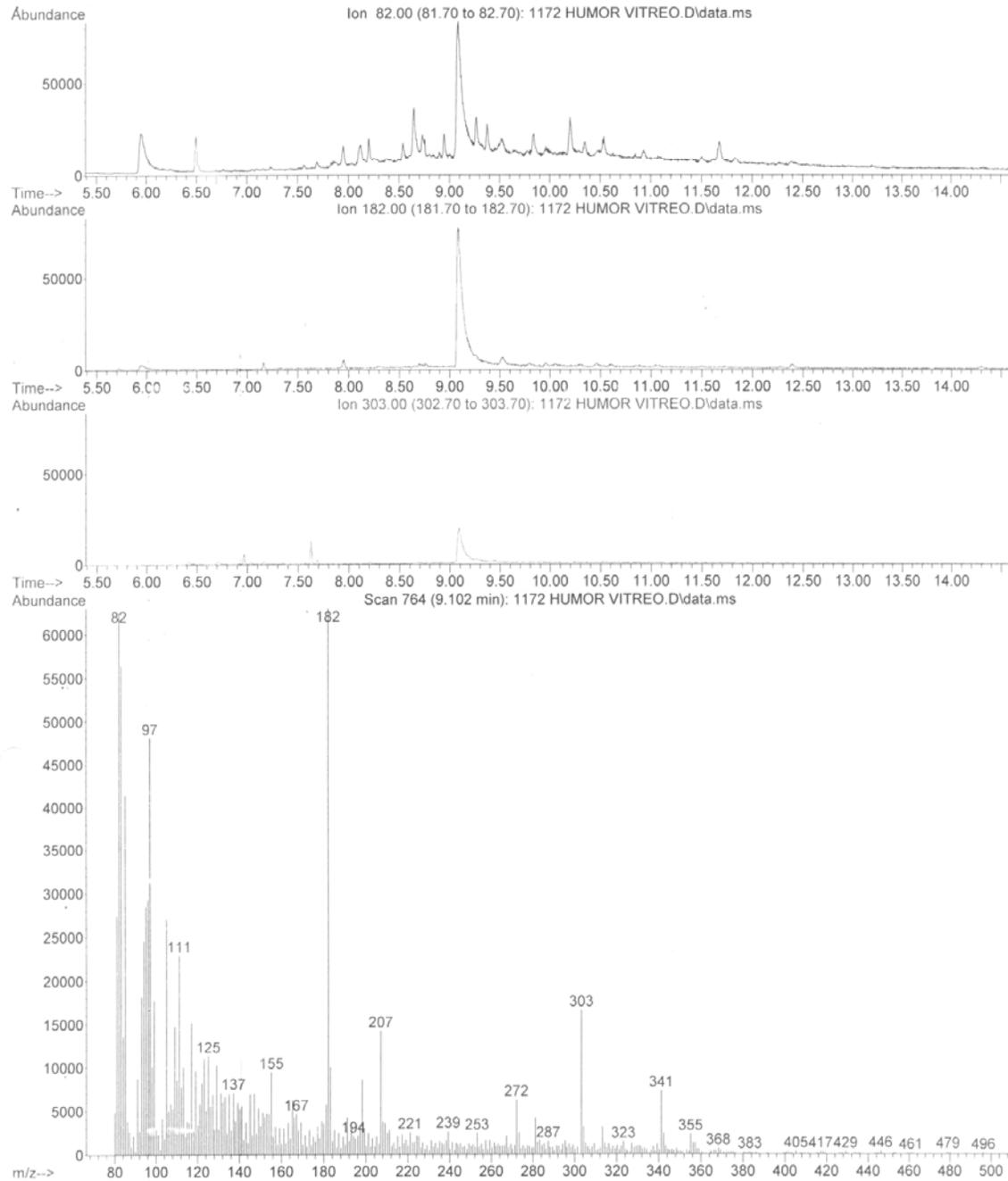
file :C:\GUERRERO\Snapshot\EXP1049.D
operator : GUERRERO BAUTISTA
acquired : 7 May 2008 17:07 using AcqMethod HARRY.M
instrument : Instrument #1
sample Name: 001
disc Info : EXP1049 HUMOR VITREO
serial Number: 1



Cromatograma correspondiente al expediente 1049 realizado en Humor vítreo



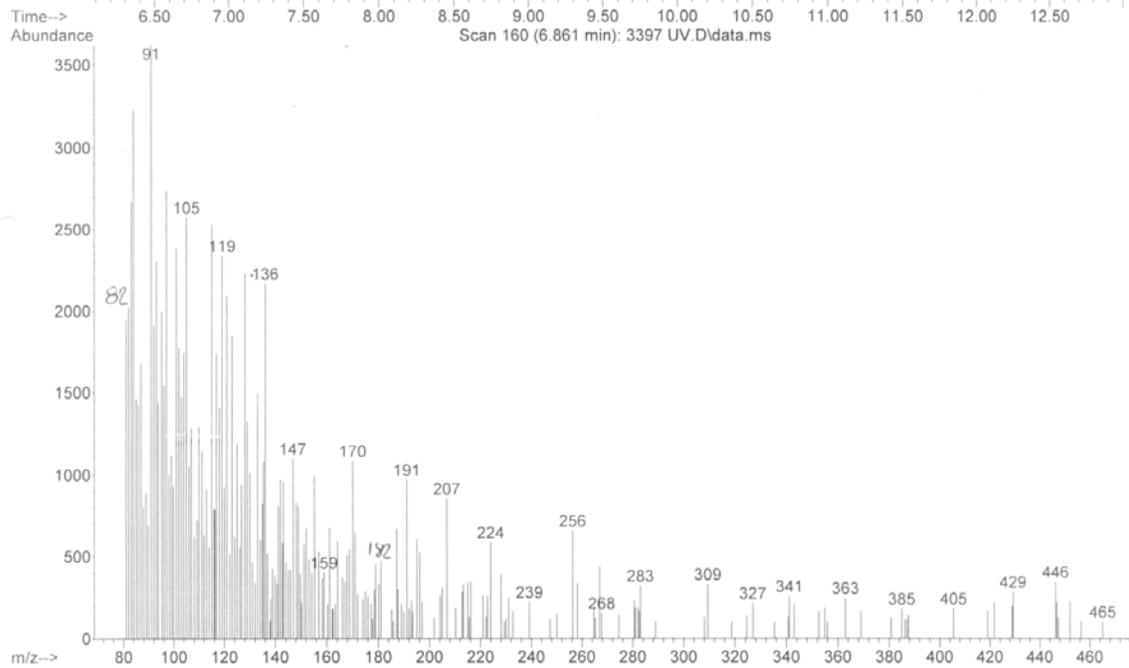
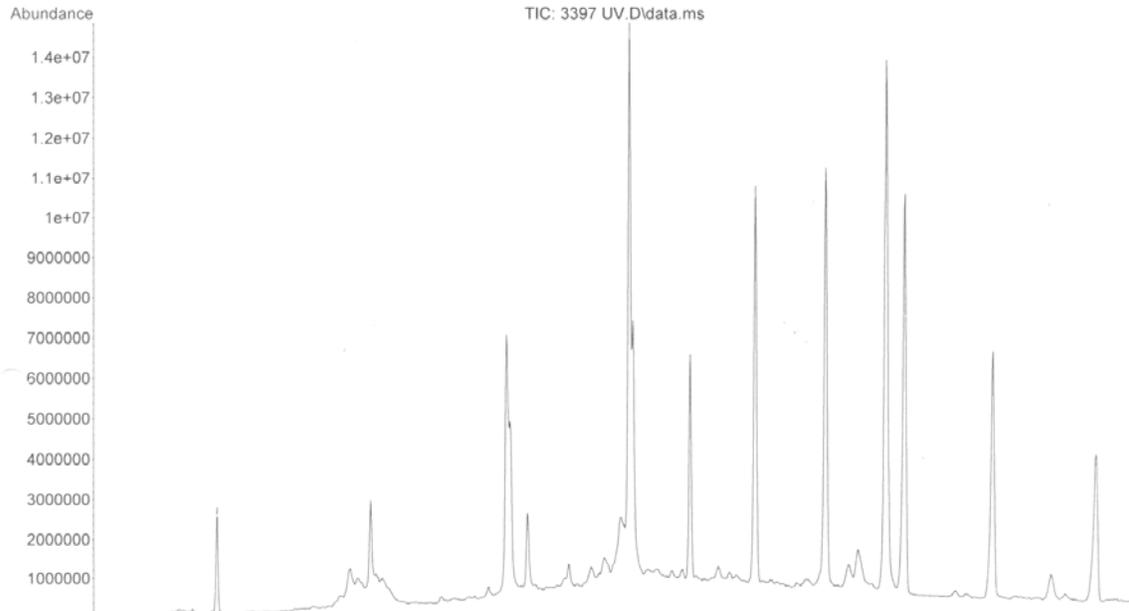
file :C:\GUERRERO\1172 HUMOR VITREO.D
operator : QFB GUERRERO
acquired : 12 Apr 2008 17:14 using AcqMethod HARRY.M
instrument : Instrument #1
sample Name: 1172
disc Info : EXP1172 2008
serial Number: 1



Cromatograma correspondiente al expediente 1172 realizado en Humor vítreo



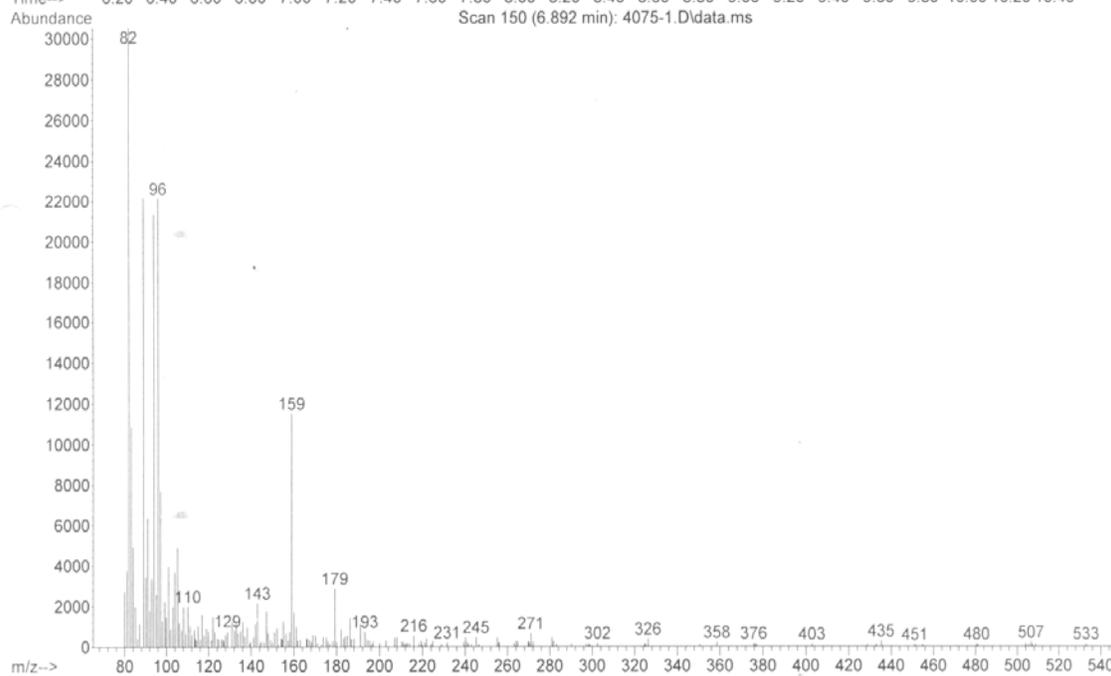
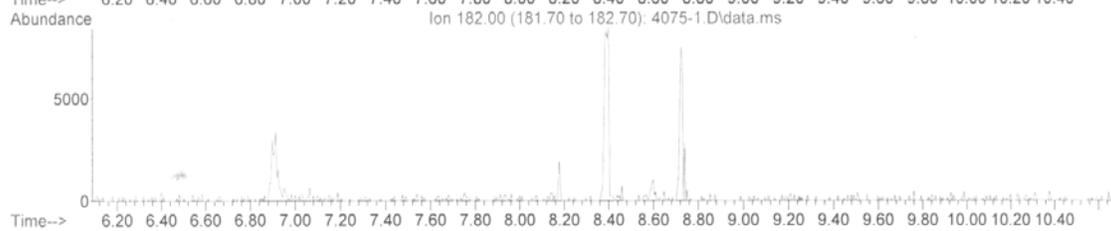
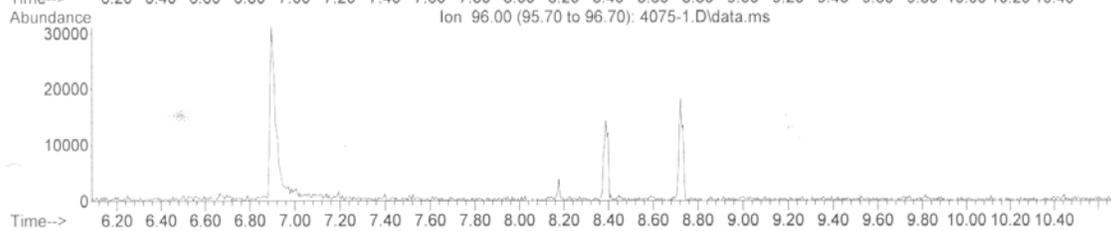
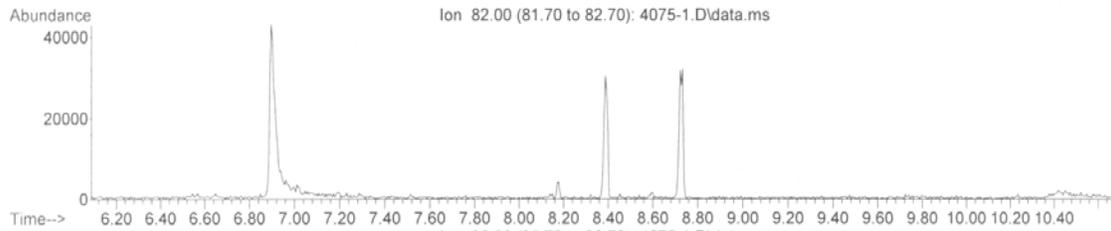
File : C:\msdchem2\1\sequence\UNAM\Snapshot\3397 UV.D
Operator : Q.F.B GUERRERO
Acquired : 5 Oct 2007 16:03 using AcqMethod HARRY.M
Instrument : Instrument #1
Sample Name: UV
Disc Info : HUMOR VITREO
Vial Number: 1



Cromatograma correspondiente al expediente 3397 realizado en Humor vítreo



File : C:\MSDCHEM2\1\SEQUENCE\UNAM\Snapshot\4075.D
Operator : Q.F.B GUERRERO
Acquired : 16 Nov 2007 19:21 using AcqMethod HARRY.M
Instrument : Instrument #1
Sample Name: HUMOR VITREO
Misc Info :
Vial Number: 4075



Cromatograma correspondiente al expediente 4075 realizado en Humor vítreo



14. GLOSARIO

Actos delictivos:	Bajo este nombre englobamos actos tipificados claramente como delitos por las leyes, como el chantaje, el soborno, la amenaza, el asesinato, el ultraje, el asalto, la violación, daños a propiedad ajena etc.
Cannabinoide:	Es un compuesto químico perteneciente al grupo de los terpenofenoles y que activa los receptores cannabinoides en el organismo humano. Actualmente, se reconocen tres tipos generales de cannabinoides: los cannabinoides herbarios o fitocannabinoides sintetizados naturalmente por la planta de cannabis; los cannabinoides endógenos producidos por organismos animales y por el cuerpo humano; y los cannabinoides sintéticos, compuestos similares generados en laboratorio.
Catecolaminas:	Es un grupo de sustancias que incluyen la adrenalina, la noradrenalina, y la dopamina, las cuales son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina.
Causal de muerte:	Es el factor que necesariamente conduce a la misma sin que pudiera tener lugar en la ausencia de ese factor
Dependencia:	Es la situación de una persona que no puede valerse por sí misma.
Drogas ilegales:	Son todas las que no forman parte de las drogas legales, y las que se accede a través del mercado negro: Derivados del cannabis, heroína, cocaína, etc.
Drogas legales:	Alcohol, tabaco, psicofármacos, estimulantes menores y otras sustancias (heroína y metadona) bajo prescripción médica.



	Es una hormona y neurotransmisor producido por una amplia variedad de animales.
Dopamina:	Como fármaco actúa como simpaticomimético promoviendo el incremento de la frecuencia cardiaca y la presión arterial.
Escopolamina:	Es un alcaloide tropánico que se encuentra como metabolito secundario de plantas en la familia de las solanáceas. La escopolamina es una droga altamente tóxica y debe ser usada en dosis minúsculas.
Estupefacientes:	Es una sustancia medicinal que provoca sueño o estupor y, en la mayoría de los casos, inhibe la transmisión de las señales nerviosas asociadas al dolor.
Glúcidos:	Son moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno. Son solubles en agua y se clasifican de acuerdo a la cantidad de carbonos o por el grupo funcional que tiene adherido.
Hachís:	Es una droga psicoactiva derivada del cannabis. Se extrae al desprender de las flores del cannabis la resina que la cubren. De aspecto sólido se hace maleable al calentarlo, es de color marrón con reflejos rojizos y suele fumarse en pipa o mezclado con tabaco.
Machu Picchu:	Es el nombre contemporáneo que se da a un antiguo poblado andino inca, construido de piedra principalmente, a mediados del siglo XV. Se ubica en las montañas orientales de los Andes centrales al sur del Perú.



Manco Cápac:	Primer gobernador de la etnia inca en Cuzco. Es el protagonista de las dos leyendas más conocidas sobre el origen de los incas. Guío a los Incas, un pueblo de lengua quechua procedente de una pequeña isla del lago Titicaca, en el altiplano boliviano, hasta el valle Cuzco, situado en los Andes peruanos.
Mama coca:	Es la esposa de Sinchi Roca, el segundo Inca, hijo de Manco Cápac y Mama Ocllo, los fundadores del imperio.
Ministerio público:	Es un organismo público generalmente estatal, al que se atribuye, dentro de un estado de derecho democrático, la presentación de los intereses de la sociedad mediante el ejercicio de las facultades de dirección de la investigación de los hechos que revisten los caracteres de delito.
Necropsia:	Es el procedimiento técnico y científico de disección anatómica sistemática de un ser vivo después de su muerte para dilucidar la causa de la misma.
Post-mortem:	Después de la muerte.
Proteoglucanos:	Constituye una familia de macromoléculas, cada una de ellas esta compuesta por una proteína central al cual se une de manera covalente a los glucosaminoglicanos (polisacáridos).
Psicoactivo:	Toda sustancia química de origen natural o sintético que afecta específicamente las funciones del sistema nervioso central, de los organismos vivos
Simpaticomimético:	Sustancias que simulan los efectos de la hormona epinefrina (adrenalina) y la hormona / neurotransmisor norepinefrina (noradrenalina).
Traumatismos:	Es una situación de daño físico al cuerpo