



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Determinación de Heroína en Cabello

Tesis

que para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo
presenta:

Anay Soto de la Llave

Asesor: M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez

México D.F.

Abril de 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DETERMINACIÓN DE HEROÍNA EN CABELLO

Agradezco el apoyo brindado para la realización de ésta tesis a mi asesor M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez.

De igual forma agradezco al Q.F.B Víctor Hugo Becerra López, a la Q.F.B Lilia Tequianes Bravo, Q.F.B Carolina Jiménez López y Q.F.B Ma. Cirenía Sandoval López quienes amablemente colaboraron con la revisión de ésta tesis.

Agradezco

A mi madre, Elia de la Llave Bobadilla, que es el ser más maravilloso del mundo; por su cariño y comprensión que desde pequeña me ha brindado, por guiar mi camino y estar siempre junto a mí en los momentos difíciles.

A mi padre, Hilario Soto Sánchez, porque desde pequeña ha sido para mí un hombre grande y maravilloso, y que siempre he admirado. Por guiar mi vida con energía, esto es lo que ha hecho de mí lo que soy.

A mis hermanos Amín y Omar como una muestra de mi cariño por todo el amor y el apoyo moral que me brindan.

A mi familia, especialmente a mi abuela Irene Bobadilla Tenorio, a mis tías, Delia y Araceli de la Llave, por su apoyo, cariño y consejos.

Mil gracias por todo lo que me han dado y por los esfuerzos realizados para que yo lograra terminar una de las metas de mi vida.

A mis amigos, (Alicia, Mauricio, Erick, Israel, Jonathan, Ricardo, Isaac, Jazmín, Irais, Alma, Edgar, Tania Abigail), gracias por la confianza que me han transmitido día a día, por los momentos que me permitieron compartir con cada uno de ustedes durante la carrera y por los que nos quedan, los quiero banda.

A Mauricio Rodrigo, muchas gracias por tu amor, apoyo y presencia.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. OBJETIVOS	3
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
5. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO.....	5
6. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.....	6
7. TIPO DE ESTUDIO.....	6
8. MARCO TEÓRICO.....	7
8.1 Morfología del cabello	8
8.2 Ciclos de crecimiento del cabello	10
8.3 Estructura del cabello.....	13
8.4 Composición química del cabello.....	16
8.5 Heroína	17
8.6 Factores que intervienen en la concentración.....	19
8.7 Importancia del cabello como indicio	22
8.8 Manipulación de las muestras del cabello.....	24
8.9 Métodos analíticos en el estudio del cabello	28
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	31
10. CONCLUSIONES.....	32
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. RESUMEN

En el presente trabajo se muestran las características del cabello, su accesibilidad para la obtención y cantidad de muestra para realizar determinaciones de sustancias nocivas, su conservación y transporte.

Una muestra de cabello permite realizar análisis de drogas procedentes de manera ilícita y el estudio del consumo reciente o crónico de estas sustancias, por lo que es un importante elemento tanto en las investigaciones toxicológicas analíticas como en las forenses.

Teniendo en cuenta el papel que desempeña el cabello como muestra biológica en análisis toxicológicos, se realizó una búsqueda bibliográfica para abordar la posibilidad de recurrir a su uso para la determinación de drogas de abuso, en especial de la heroína tema principal de esta tesina.

2. INTRODUCCIÓN

El uso de orina y sangre para la detección de drogas siguen siendo las muestras de elección en el laboratorio de toxicología analítica, sin embargo las extensas investigaciones relacionadas con el análisis de cabello en consumidores de diversas drogas, ha ayudado a que el empleo del cabello se vea favorecido llegando a la conclusión de que podría ser una alternativa a las pruebas en sangre y orina, facilitando el trabajo analítico.¹

Los análisis del cabello han proporcionado resultados importantes y útiles, se ha reportado la presencia y cuantificación en una gran proporción de una droga de origen así como de sus metabolitos, además la droga es almacenada en el cabello por un largo periodo de tiempo² por lo que puede ser detectada aun cuando la droga no haya sido consumida previamente al análisis, esto es completamente contrastante con las pruebas en orina y sangre donde la detección del metabolito es posible, por algunos días después del consumo de la droga.³ En el análisis del cabello se requiere de cantidades menores de muestra además de existir menor riesgo al manipularse.

La mayoría de los análisis incluyen los métodos basados en inmunoensayos para identificar posibles positivos, con la confirmación por una técnica más específica, entre estas están la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG/EM) o la Cromatografía de Líquidos acoplada a Espectrometría de Masas (CL/EM).⁴

Con el propósito de proporcionar información de utilidad, el trabajo de investigación evaluará la posibilidad de emplear muestras de cabello para la detección de heroína.

3. OBJETIVOS

- Objetivo General

Contribuir con información confiable sobre el uso del cabello para la detección de heroína y aprovechar su uso en el análisis toxicológico forense.

- Objetivos Específicos

- Analizar y establecer sí el uso del cabello para la detección de drogas es una alternativa a las pruebas realizadas en sangre y orina.
- Investigar la utilidad, confiabilidad y ventajas del cabello como muestra biológica en la detección del consumo de heroína en el análisis toxicológico forense.
- Considerar sí la técnica de CG/EM es una herramienta confiable para la identificación y cuantificación de heroína en cabello con fines forenses.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en día el uso de opiáceos es un problema muy común, por lo cual es necesario tener información certera que nos ayude a encontrar indicios del consumo de estos en cabello.

La mayoría de las investigaciones intentan demostrar la posibilidad de usar muestras de cabello para la determinación de heroína como una alternativa al uso de otro tipo de muestras biológicas. Sin embargo, como el análisis del cabello es reciente existen cuestionamientos acerca de la confiabilidad de su uso, debido a que no se han logrado estudiar todos los factores que pueden influir o interferir en la determinación de las concentraciones de heroína, lo cual complica el análisis y la interpretación de los resultados.

5. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

La detección de heroína es importante en el campo de la toxicología, para su análisis existen diversas muestras biológicas tales como fluidos, fragmentos de vísceras y cabello.

En esta investigación se propone usar muestras de cabello en el análisis toxicológico para la determinación de heroína por sus ventajas, siendo las principales: la recolección, manipulación más segura y sencilla, la determinación de la droga puede realizarse aunque el consumo no sea reciente, además se pueden detectar los metabolitos de la droga.

6. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Para la elaboración de la tesina se tomaron en cuenta solo las investigaciones de los últimos 20 años que han identificado y cuantificado las principales drogas de abuso y sus metabolitos, especialmente heroína en muestras de cabello como muestra biológica. La recopilación de información se efectuó de acuerdo a los siguientes criterios:

- En Bibliotecas e Instituciones relacionados con el tema.
- En libros relacionados con el tema.
- Revistas de carácter científico obtenidas de la base de datos de la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM.

7. TIPO DE ESTUDIO

Es una tesina bibliográfica, descriptiva retrospectiva.

8. MARCO TEÓRICO

El análisis de las muestras del cabello para examinar la exposición de drogas de abuso es de interés considerable puesto que las drogas y los metabolitos incorporados en el cabello permanecen por un periodo de tiempo mucho más largo comparado a la sangre y a la orina.⁵⁻⁸ Las muestras de cabello obtenidas de consumidores de droga han sido analizadas para la cocaína, heroína, marihuana, nicotina, codeína, anfetaminas y sus metabolitos.⁹ Sin embargo, el tiempo del muestreo de la orina es crítico porque todas las drogas, a excepción de la marihuana, pueden ser detectadas en orina solamente en el plazo de 2-3 días^{10,11} después del uso; además, el cabello contiene relativamente un alto porcentaje del precursor del metabolito, de modo que cualquier precursor de la droga o el metabolito puede ser detectado. Esto está en contraste con la sangre y la orina donde generalmente sólo la detección del metabolito es posible.⁹

El análisis del cabello es una herramienta confiable para confirmar o descartar el abuso crónico de la droga.¹² Como el cabello crece aproximadamente 1 centímetro por mes, el periodo del abuso de la droga se puede remontar meses atrás, dependiendo de la longitud del cabello.⁷

Como matriz biológica, el cabello tiene ventajas: puede ser obtenido fácilmente, no es fácilmente adulterado y gracias a su estabilidad puede ser almacenado y transportado sin la precaución particular comparados a la sangre y orina.¹³

Un procedimiento correcto del análisis toxicológico, especialmente en estudios forenses y epidemiológicos, implica dos diversos pasos: un presuntivo y un confirmativo. Generalmente se realiza un inmunoanálisis y posteriormente un método cromatográfico;¹⁴ el primero se realiza para tener en cuenta una supervisión preliminar de muestras en un periodo de tiempo reducido, mientras que el segundo paso proporciona especificidad.¹³

La preparación de la muestra requiere varias horas, generalmente por la hidrólisis química, hidrólisis enzimática o extracción con disolventes.⁹ La CG/EM se utiliza con frecuencia para el análisis del extracto derivatizado, aunque los métodos de radioinmunoanálisis (RIA) también se utilizan.⁸ En cualquier caso el tiempo de análisis es insignificante comparado al tiempo requerido para la preparación de la muestra.¹⁰

Interpretar los resultados del análisis del cabello para las drogas de abuso es difícil, porque es relativamente una nueva metodología.¹⁵

Un punto importante es la estabilidad de drogas en cabello humano, sin embargo existen factores que pueden afectar la concentración de las drogas y complicar así la interpretación de resultados de estos análisis. Estos factores incluyen, el color o el contenido de melanina del cabello,¹⁵ características fisicoquímicas de las drogas, tales como liposolubilidad,¹ afinidad a la melanina y permeabilidad de membrana, la contaminación externa de las drogas y de los tratamientos cosméticos para el cabello.^{2,6}

1.1 Morfología del cabello

El pelo es una producción de la piel en forma de filamento conificado que se encuentra en casi toda la superficie del cuerpo y recibe diferentes nombres según su forma y su localización: cabello, pestaña, vello, etc. El diccionario de la Real Academia Española define el pelo como un forúnculo que nace de los poros de la piel, y cabello como cada uno de los pelos que nacen en la cabeza.

8.1.1 Tipos de pelos¹³

En los humanos, generalmente se habla de cuatro tipos de pelo, caracterizados principalmente por su textura y su longitud: el lanugo, el vello, el intermedio y el terminal.

Lanugo

Es fino, suave y poco pigmentado, y carece de médula central. Existen dos capas de lanugo, una que cubre al feto y se cae justo antes del nacimiento, y otra que crece después del nacimiento y se cae durante el tercer o cuarto mes de vida.

Vello

Alcanza generalmente una longitud de menos de un centímetro. Crece en los niños pequeños tras la caída del lanugo y se trata de un cabello fino, poco pigmentado y medulado. Éste sigue creciendo durante toda la vida y generalmente, entre el 6 y el 25 % del cabello del cuero cabelludo es de este tipo.

Intermedio

Tiene aproximadamente un centímetro de longitud y se forma en el cuero cabelludo de los niños entre los 3 y los 7 meses de edad, puede durar hasta 2 años.

Terminal

Crece mucho más de un centímetro y es más denso y más grueso que los otros tipos de cabello. Crece en el cuero cabelludo, las cejas y las pestañas antes de la pubertad. El pelo sexual secundario, como el pelo púbico o el pelo de la barba en los varones, también es pelo terminal.¹⁷

1.2 Ciclos de crecimiento del cabello

El cabello se produce a partir de los folículos pilosos localizados en la superficie de la piel. Originalmente, se desarrolla en las primeras etapas de la vida fetal, y se cae en un ciclo regular durante toda la vida. El ciclo capilar no está sincronizado en los humanos. Normalmente, el cuero cabelludo tiene una mayoría de cabellos en la fase de crecimiento, y una minoría en las fases de transición y de reposo del ciclo. La fase de crecimiento de los folículos pilosos del cuero cabelludo tiene una duración mayor que la de las otras fases, y esta duración está relacionada con la longitud final del cabello.¹³

El desarrollo del pelo en el ser humano se inicia en el embrión y ya en el sexto mes, el feto aparece cubierto de un pelo muy fino (lanugo). En los primeros meses de vida el lanugo se cae y es reemplazado por cabello, cejas, y vello en el resto del cuerpo. La velocidad de su crecimiento varía con la edad de la persona y con la longitud. Cuando es corto, crece unos 2 cm por mes, pero la tasa de crecimiento se reduce a la mitad cuando es largo. El crecimiento mayor se da en mujeres cuya edad oscila entre 16 y 24 años de edad.¹³

El crecimiento del cabello ocurre por un mecanismo activo y constante a un ritmo de 0,4 milímetros al día¹⁶; los cabellos se encuentran en distintas fases de crecimiento y descanso, ya que cada pelo tiene su propio ciclo independiente de los que le rodean.¹³

Cada día crecen nuevos cabellos mientras otros caen, de acuerdo con un ciclo que se renueva ininterrumpidamente.

Cada ciclo está formado por diferentes fases: crecimiento, regresión y descanso. Durante un ciclo capilar normal, el cabello crece, descansa y cae, con el fin de dejar sitio a un nuevo cabello. Se considera normal la pérdida diaria de entre 50 y 100 cabellos como media; una caída superior podría suponer una perturbación en el ciclo (cuadro 1).¹³

La duración del ciclo capilar varía en función de la edad y de la región del cuerpo, así como la longitud y el grosor del cabello respectivo. Los folículos pueden encontrarse en fase de crecimiento o "anágena"; en fase de transición o "catágena"; o en fase de reposo o "telógena".¹³

Fase de crecimiento o anágena

Fase de crecimiento del folículo piloso. Aproximadamente el 90 % del cabello en el cuero cabelludo está en esta fase.¹³ Estos folículos son metabólicamente muy activos y, como resultado, muy sensibles a los cambios nutricionales y a los daños químicos.

El cabello tiene una fase anágena relativamente larga, que puede durar entre 2 y 6 años.^{12,13} Existe una relación directa entre la longitud del cabello y la duración de la fase anágena. Es decir, cuanto más dure la fase anágena, más crece el cabello.

Fase de transición o catágena

Es la fase más corta del ciclo capilar, y su duración media es de 14 días.¹² El número de folículos pilosos que están en esta fase es muy pequeño. Durante esta fase, se detiene la mitosis en la matriz germinal y las células que ya se han formado se terminan de diferenciar; la parte más profunda del folículo se acorta y se encoge. Las células que han abandonado la matriz sufren una rápida queratinización sin avanzar hacia arriba, de este modo el folículo se transforma en una masa ovoide que fija al pelo. Esta masa se rodea de una cubierta epitelial en forma de saco de células epidérmicas indiferenciadas originadas en la vaina reticular externa. Este saco continúa bajo la vaina en un filamento que lo une a la papila dérmica, ahora atrófica, mientras que dicha masa se libera y asciende.^{13,16}

Fase de reposo o telógena

Cuando se ha completado la queratinización, el cabello entra en la última fase del ciclo o la fase de reposo del ciclo capilar y menos del 20 % del cabello está en esta fase al mismo tiempo. Dura aproximadamente 4-6 meses. Al llegar de la fase de transición a la de reposo, el cabello deja de crecer para siempre.^{12,13}

El cabello telogénico generalmente se cae durante esta fase o durante la siguiente fase anagénica, y se forma gradualmente una nueva matriz desde las células madre de la capa basal de la vaina epitelial externa. Un nuevo cabello nace, crece y el folículo inicia de nuevo el ciclo.¹³

Cuadro 1. Características del cabello

Número	100,000 a 150,000
Densidad	300 a 400 por cm ²
Diámetro	40 a 100 micras
Longitud	50 a 100 cm
Velocidad de Crecimiento	1 cm por mes
Duración de Crecimiento	promedio de 3 años
Caída Normal	50 a 100 por día

8.3 Estructura del cabello

El cabello se aloja en una cavidad de la piel llamada folículo piloso, que se extiende hasta la dermis y eventualmente hasta la capa subcutánea, encontrándose rodeado por una vaina de tejido conectivo. El folículo tiene orientación oblicua y termina en la profundidad en un engrosamiento llamado bulbo piloso, dentro del cual se encuentra una cavidad ovoide ocupada por tejido conectivo laxo, la papila dérmica, la cual está relacionada con el tejido dérmico a través de un pequeño orificio y que es la que alimenta al cabello (figura 1). En un folículo activo, la mitad inferior de la papila dérmica está rodeada por células del bulbo, mitóticamente activas (queratinocitos y melanocitos). Cuando la circulación sanguínea es activa el crecimiento del cabello es rápido, siendo lento en caso contrario.¹²

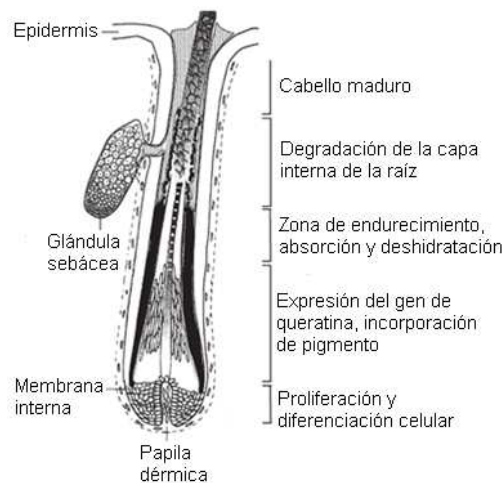


Figura 1. Estructura del folículo piloso

La parte del cabello que se origina sobre el nivel de la epidermis se llama tallo piloso, y la porción situada dentro del folículo es la raíz (figura 2).^{12,13}

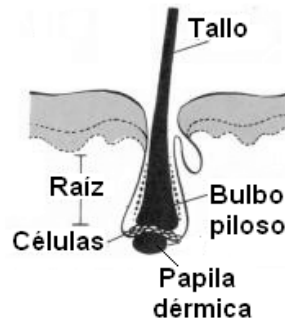


Figura 2. Estructura del cabello

Raíz

Es la parte fija del cabello, ubicada dentro del folículo piloso y que se extiende hasta el bulbo piloso, donde está la papila dérmica que nutre al cabello. En la raíz se produce una gran actividad metabólica y mitótica.

Tallo piloso

También llamada eje, es la parte libre y principal del cabello y está formado de afuera hacia adentro por tres partes concéntricas: cutícula, corteza y médula (figura 3).

Cutícula

Se le atribuye la resistencia y estabilidad, ocupa el 90% del grosor total del cabello está formada por células muy delgadas, aplanadas superpuestas a manera de escamas, que siempre apuntan hacia la punta del cabello. Las escamas están formadas por células especializadas queratinizadas, las cuales se apilan desde el folículo y el nacimiento del cabello, forman de 6 a 8 capas.^{12,13,16}

Corteza

Constituye la capa media del tallo piloso, ocupa un 70% del grosor total del cabello está sostenida de la capa protectora de la cutícula, sus elementos son células cúbicas que gradualmente se aplanan y una vez queratinizadas se transforman en células fusiformes, las cuales se alinean en una formación regular paralelas a la longitud del cabello. Se distinguen en la corteza dos estructuras: microfibrillas y matriz.^{12,13,16}

Médula

Representa el 21% del grosor del cabello, es el canal central que corre a través de él y está compuesta por células córneas redondeadas sin núcleo incompletamente queratinizadas y separadas por una red aérea de aspecto variable. El cabello humano puede no exhibir medula o tenerla fragmentada, raramente muestra una medulación continua.^{12, 13,16}

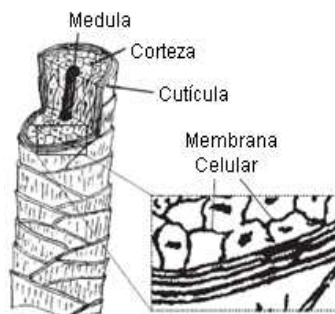


Figura 3. Estructura del tallo piloso

8.4 Composición química del cabello

El tallo piloso está constituido por fibras protéicas principalmente α -queratinas, melaninas (eumelaninas y feomelaninas), lípidos, agua y compuestos minerales. Los principales elementos y minerales son: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre. En menor cantidad contiene: calcio, cobre, cadmio, mercurio, zinc, plomo, hierro, arsénico, silicio, magnesio, uranio, vanadio, sodio y potasio (cuadro 2).^{12,13}

Cuadro 2. Composición química

Sustancia	Cantidad (%)
Proteínas	28
Queratina	85 a 90
Lípidos	1 a 9
Agua	70
Minerales	70
Oxígeno	30
Nitrógeno	15
Hidrógeno	6

8.5 Heroína

La heroína químicamente es la diamorfina o diacetilmorfina. Es un opiáceo semi-sintético, producida a partir de la morfina a través de un proceso químico y es aproximadamente 3 veces más fuerte que ésta.

Puede presentarse en forma de polvo blanco, como una pasta o goma marrón. Se administra por insuflación nasal, vía bucal, fumada, sublingual, vía rectal y, a veces, endovenosa.^{17,18}

Al absorberse pasa rápidamente a la sangre y atraviesa la barrera hematoencefálica. La vida media en la sangre es menor de 20 minutos. Se distribuye en el cerebro, hígado, riñón, sangre y pulmón, en los cuales es desacetilada y transformada en 6-monoacetilmorfina (6-MAM). Luego, la 6-MAM es hidrolizada a morfina. La orina contiene morfina libre y la forma conjugada^{17,18} (figura 4).

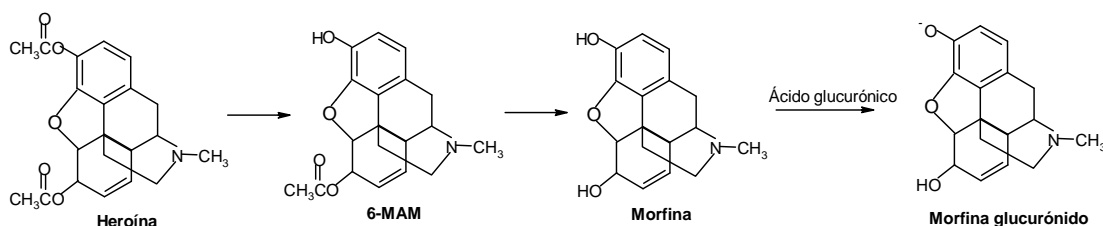


Figura 4. Metabolismo de la Heroína

La morfina y 6-MAM son compuestos de baja polaridad, por lo que pueden penetrar fácilmente la membrana celular del cabello.¹⁹ La presencia de 6-MAM en cabello confirma el uso de heroína.

Al igual que todos los opiáceos, la heroína es un potente analgésico que hace que el usuario tenga menos conciencia y pueda tolerar mejor los dolores y afecciones físicas y emocionales, a altas dosis produce una importante sedación. Por otra parte, puede producir sentimientos de calidez, euforia, placer y bienestar.¹⁷

Concentración de heroína en el cabello

Un problema importante para aplicar el análisis de drogas de abuso a muestras de cabello es la elección de un determinado límite de corte ("cut-off"), estos valores de corte (cut-off) son de gran importancia para la interpretación de los resultados en cabello.

Para indicar o descartar el uso de la heroína, las principales sustancias detectadas en el análisis del cabello son la 6-MAM, seguido por la morfina y la heroína.²⁰ Estudios realizados,^{12,20,21} consideran que, en general, el límite de corte para heroína en muestras de cabello es de 0.5 ng/mg y la positividad que indica consumo de heroína requiere niveles en cabello de al menos 1ng/mg de 6-MAM.^{12,20}

Dentro del análisis de las muestras de cabello en consumidores de heroína, el cociente morfina/6- monoacetilmorfina crece con el aumento de la distancia de la raíz del cabello,¹² siendo entre 0.10-0.77 para indicar consumo.²²

8.6 Factores que intervienen en la concentración

Incorporación de la droga en el cabello

Los mecanismos exactos implicados en la incorporación de la droga en el cabello siguen siendo confusos, sin embargo datos experimentales indican que las drogas ingresan por varios mecanismos en una variedad de zonas, tiempo y fuentes. Dentro de los modelos posibles están, por difusión activa/pasiva de la sangre a las células de crecimiento del folículo piloso, difusión a partir de secreción sudoral y sebácea durante el crecimiento del cabello o difusión de la contaminación ambiental al interior del cabello.^{1,12,16,23} La incorporación de la droga de la sangre al cabello es controlada por los principios farmacológicos de distribución de dicha droga.^{12,13}

La interferencia por contaminación externa es común en personas que habitualmente trabajan con decomisos de heroína, la contaminación cruzada en el laboratorio de análisis es fácil por la amplia superficie del cabello.^{16,20}

Efectos del clima a largo plazo consiguen causar daño al cabello con impactos subsecuentes en la concentración de la droga.

Transporte de la droga a través de las biomenbranas del cabello

Existen factores involucrados en el transporte de la droga dentro del cabello, estos incluyen el pH, la presencia o la ausencia de varios grupos funcionales dentro de la estructura molecular de la droga, tamaño molecular, liposolubilidad de la droga, pka.^{6,23-26}

Las moléculas orgánicas lipofílicas pueden penetrar fácilmente las membranas y difundirse según el gradiente de concentración en las células de la matriz. Sin embargo, para moléculas hidrofílicas o iones orgánicos de masa molecular media, las membranas forman una barrera impermeable. Drogas básicas o ácidas ionizadas a un alto grado a pH fisiológico pueden alcanzar las células de la matriz después de la desprotonación o de la protonación, respectivamente, a un estado neutral. Como tal, el pka del compuesto y el pH

de las células de la matriz son importantes. El pH intracelular de queratinocitos es más ácido que el del plasma y el pH de los melanocitos esta entre 3 y 5.^{12,25,26}

Ambos efectos, pH más bajo y unión a la melanina, conducen a la acumulación de drogas lipofílicas y básicas en células de la matriz con preferencia clara por cabello pigmentado.

La afinidad de la droga por la melanina también es un factor involucrado con la presencia de la droga en el cabello, ya que las drogas se unen y acumulan a la melanina del cabello, así, con mayor concentración de melanina (cabello negro) se concentran altas cantidades de droga, que en cabello con menos cantidad de pigmentación (cabello rubio) o sin pigmentación (albino).⁶ Existen dos clases importantes de pigmentos que producen la amplia gama de color del cabello, la eumelanina da el color oscuro y la feomelanina proporciona el color rojo y rubio.⁸ Ambos grupos de pigmentos se producen bajo control genético en los melanocitos en la raíz del cabello.^{1,4,27}

Metabolitos polares tales como morfina, ingresan al cabello en un grado inferior que su precursor lipofílico (6-monoaceilmorfina).¹²

Relación entre dosis de droga y concentraciones en cabello

Un importante parámetro a considerar, con las concentraciones de 6-MAM en cabello se relaciona con las dosis (g/día y g/semana).^{1,12,16,26}

Tratamientos cosméticos

Estos tratamientos alteran los componentes normales del cabello, es decir, dañan la cutícula⁶ permitiendo la acción de los rayos ultravioleta (UV).²⁸ Algunos autores²⁸ llegan a la conclusión de que las drogas en el cabello pueden disminuir después del tratamiento cosmético, sin embargo no son eliminadas por completo. Se ha demostrado que los opiáceos son más sensibles al tratamiento cosmético (aclaramientos) que otras drogas (figura 5).¹²

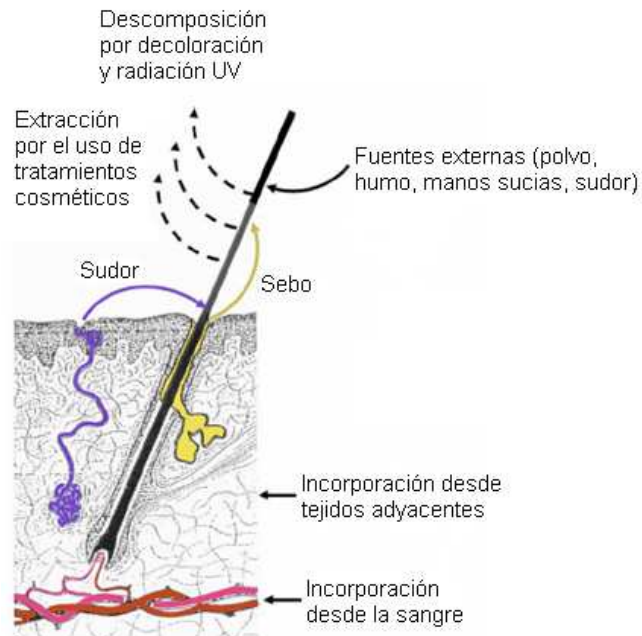


Figura 5. Incorporación y eliminación de drogas en cabello.

Influencia de las técnicas analíticas en la interpretación

El establecimiento de límites de corte (cut-off) es considerado con el propósito de mejorar la sensibilidad y especificidad de las técnicas empleadas, son determinados estadísticamente o establecidos por el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ).^{1,12}

Los valores de corte (cut-off) se utilizan generalmente por dos razones. Primero, para evitar resultados falsos positivos. En segundo lugar para decidir si el resultado obtenido es causado por cierta razón o no.¹²

8.7 Importancia del cabello como indicio

Últimamente la criminalística ha descubierto que el cabello es un importante elemento en la investigación de crímenes, ya que presenta ventajas destacadas que permiten tener preferencia sobre otros fluidos o tejidos para la detección de heroína, como son:^{12,20}

- Este tipo de análisis sobre el realizado en otras muestras biológicas se basa en el hecho de que el tallo del cabello es un tejido sin metabolismo, por lo que estas sustancias permanecen almacenadas en el mismo prácticamente sin variación durante un largo periodo de tiempo.¹⁶
- Tanto la heroína como sus principales metabolitos se incorporan al cabello desde el torrente sanguíneo y permanecen allí retenidos de forma estable e indefinida, proporcionando un periodo de detección mucho mayor con respecto a otros fluidos biológicos, se encuentra para la morfina en un tiempo de 7-8 días.¹²
- El análisis cronológico de cabello de una misma muestra y de muestras sucesivas puede constituir una prueba importante e incluso decisiva en los Tribunales de Justicia, ya que puede aplicarse para la determinación del consumo de drogas meses después de iniciarlo, proporcionando una perspectiva histórica del consumo,^{11,16} así como la intensidad del consumo a lo largo del tiempo.
- Inexistencia de riesgo de falsificación por abstinencia temporal o adulteración.^{11,15}
- La recolección de la muestra se puede realizar bajo estrecha vigilancia y sin invadir la privacidad del individuo.^{11,15}
- Posibilidad de tomar una segunda muestra de la misma persona para efectos de identificación y comparación o contraanálisis.²¹

- Estabilidad tanto de la muestra de cabello como de los analitos presentes en la misma incluso bajo condiciones ambientales adversas.^{12,15}
- La posibilidad de almacenarla casi indefinidamente sin refrigeración.¹⁵

Aplicaciones

Los profesionales médicos y autoridades legales de varias jurisdicciones utilizan el análisis del cabello para probar o excluir el uso crónico de drogas ilícitas dentro de casos de:¹

- Revocación de licencia de conducir por abuso de la droga
- Gravamen de conformidad a tratamientos de desintoxicación
- Supervisión de libertad condicional
- Violación de leyes sobre narcóticos
- Crímenes relacionadas con el consumo de drogas.¹ Es recomendable recoger la muestra de cabello inmediatamente después de la detención si se observa o se asume la conexión con la droga.¹²
- Custodia de niño, adopción, divorcio etc.
- Casos civiles y criminales específicos con la alegación de abuso de la droga.

8.8 Manipulación de las muestras de cabello

El análisis de cabello para drogas se realiza preferencialmente dentro de casos forenses. Debido a sus serias consecuencias, el analista asume una alta responsabilidad de obtener un resultado correcto.

Por lo tanto, el proceso de muestreo debe ser bien organizado para evitar cualquier error potencial.¹²

8.8.1 Recolección de la muestra

La importancia de los pasos pre-analíticos del análisis del cabello es subestimada a menudo. Debido a la naturaleza específica de la prueba, la muestra de cabello se debe recoger por un experto o por el personal del laboratorio indicado. Si esto no es posible, se debe contar con protocolo claramente escrito de la recolección debido a que la selección de las longitudes del segmento del cabello y los métodos analíticos subsecuentes dependen del proceso, toda la información relevante debe ser obtenida y bien documentada (cadena de custodia). Esta información incluye una breve reseña del caso, finalidad de la investigación, drogas sospechosas, fecha de muestreo, identificación incuestionable del individuo, confirmación de la identidad de la muestra con firma escrita. Además de los datos personales, se deben registrar características del cabello incluyendo fecha y sitio de recolección (área de la cabeza), longitud residual en el cuero cabelludo, longitud del cabello y color. El uso de tratamiento cosmético en cabello puede estar detectado generalmente en el cuero cabelludo antes de la recolección de no ser así preguntarse al individuo.¹²

Se debe recolectar un mechón de cabello con un diámetro de 3 a 4 mm cuidadosamente cortado directamente en la superficie de la piel. Para propósitos forenses, es recomendable recoger por separado por lo menos dos muestras de cabello. Una muestra debe ser suficiente para el análisis incluyendo la confirmación y cualquier repetición necesaria. La segunda

muestra de cabello se almacena por separado y es para uso futuro, es decir, para un reanálisis en caso de ser necesario.¹²

Las muestras de cabello deben ser almacenadas bajo condiciones secas y oscuras a temperatura ambiente. El almacenaje debe ser en bolsas de plástico o en un sobre de papel ambas etiquetadas con los datos evitando así contaminación. Un procedimiento práctico es envolver la muestra de cabello seco en papel de aluminio antes de la colocación en el sobre o la bolsa.¹²

Bajo estas condiciones, la mayoría de las drogas o metabolitos son estables y pueden ser detectados después de años de almacenaje.¹²

8.8.2 Preparación de la muestra

Ddivisión de los fragmentos

Para elegir las longitudes de los segmentos apropiadas, deben ser considerados el tiempo de determinación, la cantidad disponible de la muestra y los costos del análisis.¹²

Un método especialmente útil es colocar el mechón de cabello en un papel milimétrico, para cortar los segmentos con una laminilla de acero (navaja). El usar las graduaciones numeradas en el papel, permite cortar sistemáticamente las longitudes apropiadas del cabello.¹²

Descontaminación

La limpieza de la muestra es necesaria por dos razones. Primero eliminar residuos de productos cosméticos para el cabello, así como sudor, polvo, grasa que originan interferencias analíticas. En segundo lugar eliminar restos de droga provenientes de contaminación ambiental, esto contribuiría a obtener resultados incorrectos.^{12,16,23}

Los disolventes usados para la descontaminación del cabello deben quitar tanto como sea posible impurezas externas, pero sin extraer las drogas de la matriz del cabello. No hay consenso general respecto a este procedimiento. Por ejemplo, una secuencia para las muestras post mortem del cabello se compone de lavar con 0.1% de duodecilsulfato de sodio en agua, agua destilada y acetona. Otros procedimientos incluyen uno o dos lavados con diclorometano, secuencias de diversos disolventes orgánicos o un breve lavado con metanol.²³ Los disolventes no prácticos por ejemplo el diclorometano o acetona son ventajosos porque no hinchan el cabello de tal modo que extraen los contaminantes del cabello.^{12,23}

Se ha demostrado que el resultado analítico del análisis del cabello puede ser afectado fuertemente por el procedimiento de lavado utilizado.^{12,23}

Separación de la droga de la matriz del cabello

No hay métodos directos para la detección de drogas orgánicas en la matriz del cabello. Por lo tanto, las drogas deben ser extraídas por la solubilidad o digestión de la matriz del cabello. Deben ser consideradas la estructura química de la droga y su sensibilidad a los agentes usados para la preparación de la muestra.

Antes de la extracción, el cabello se corta típicamente a las longitudes de 1-3 milímetros o puede ser procesado por molienda.¹²

Sin embargo, este último contacto da lugar generalmente a la pérdida de muestra y no mejora el proceso de la extracción.¹²

Extracción

Un procedimiento compatible con casi todas las sustancias es la extracción de la drogas con metanol (5-18 h) en un baño ultrasónico.^{11,23} El metanol hidrofílico penetra la matriz del cabello lo que provoca aumento de volumen y liberación de la droga por difusión, disuelve compuestos neutros y lipofílicos; la ultrasonificación causa una fuerte degradación de la estructura del cabello apoyando este proceso.¹²

Este tipo de extracción es conveniente para drogas sensibles a hidrólisis tales como la heroína.¹²

Como el nivel de impureza en el extracto es relativamente alto se recomienda una segunda extracción ya sea líquido/líquido o en fase sólida.¹²

La extracción con ácidos o soluciones buffer es aplicada para drogas básicas, estos extractos son mucho más puros que los extractos de metanol; los opiáceos son extraídos por HCl acuoso 0.01-0.5M o con buffer de fosfato de pH= 6.4 o 7.6 debido a la protonación.^{12,23}

8.9 Métodos analíticos empleados en el estudio del cabello

Actualmente las técnicas para el análisis del cabello incluyen: inmunoensayos (principalmente utilizado para propósitos de investigación),^{4,15} y para la confirmación de los resultados positivos Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM),⁴ Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas (CLAR-EM)¹¹ o Electroforesis Capilar (EC).^{4,12,15}

Técnicas inmunoquímicas

Aunque los primeros análisis del cabello para las drogas fueron realizados por radioinmunoanálisis (RIA), los inmunoensayos no tienen aceptación general porque están disponibles para un limitado número de drogas o metabolitos, además de que la concentración de la droga contenida en cabello es baja y la muestra es de pequeño tamaño.¹² Los estuches (kits) de prueba desarrollados originalmente para orina son insuficientes en sensibilidad para el uso de cabello, sin embargo en investigaciones que emplearon la técnica de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay),¹⁵ el estuche (kit) Cozart® microplato para opiáceos demostró una sensibilidad y una especificidad del 98% y el 93%, respectivamente, para 106 muestras de cabello con extracción con metanol (cut-off de 0.2 ng/mg), también se ha descrito un procedimiento automatizado de ELISA para opioides en cabello. Sin embargo, investigaciones con pruebas inmunológicas directas para cualquier opiáceo han comprobado que se permite una discriminación rápida de resultados positivos potenciales.¹⁵

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

Es el método usado con mayor frecuencia en el análisis de cabello, las ventajas incluyen alta resolución del capilar y alta especificidad por ionización en impacto electrónico (EI) usando el monitoreo con ion selectivo (SIM), estas características permiten el desarrollo de procedimientos específicos y sensibles con suficiente exactitud a concentraciones bajas. La CG-EM usando EI-SIM ha

sido propuesto para el análisis de múltiples drogas incluyendo, anfetaminas, opioides, cocaína y metadona.^{1,12,15}

Una característica que debe presentar la sustancia a determinar es que sea suficientemente volátil y estable a altas temperaturas. Éstas características no están presentes en drogas con grupos libres amino (NH₂), oxhidrilo (OH) o grupos carboxilo (COOH). Por lo tanto, el extracto del cabello debe derivatizarse generalmente antes de la CG-EM.¹²

Para el análisis simultáneo de varias drogas, los diferentes grupos deben ser protegidos mediante reacciones de derivatización que tienen como fin la formación de alquil-éteres o alquil-ésteres, así como una trimetil-silación lo cual mejora las características de volatilidad, estabilidad térmica y la sensibilidad de detección.¹²

Se ha aumentado la sensibilidad y la especificidad empleando CG-EM/EM, en las cuales el fragmento del ion molecular o el ion fragmentado de la primera separación se expone a una segunda fragmentación con un gas de colisión.¹²

La CG-EM/EM usando un triple cuadrupolo ha sido utilizada para la determinación de heroína y sus metabolitos en cabello, después de la purificación y silación directa de la muestra, así ha alcanzado una sensibilidad de cerca de 25 pg/mg.¹

Como resultado de estos avances, la técnica de CG-EM/EM está siendo utilizada cada vez más en el análisis del cabello.¹²

Cromatografía de Líquidos acoplada a Espectrometría de Masas (CL-EM)

La cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) también se ha utilizado en análisis de cabello. En efecto, la CLAR generalmente se considera más conveniente que la CG para analizar extractos biológicos, particularmente para

compuestos polares y termolábiles, y requiriendo raramente derivatización.^{1,12} La sensibilidad y la selectividad pueden ser excelentes, especialmente cuando se utilizan detectores selectivos electroquímicos (EQ), fluorimétricos (FL) o de absorción ultravioleta (UV). El uso de detectores EQ para la morfina ha permitido el logro de sensibilidades cerca de 0.02ng/mg.¹

Se ha introducido el uso de CLAR-EM empleando ionización de rocío (Electro-Spray Ionization, ESI) para opioides donde los resultados son prometedores en términos de sensibilidad y selectividad.¹

A pesar de sus ventajas, la CL-EM/EM está limitada a un número pequeño de laboratorios toxicológicos forenses debido al alto costo.¹²

Métodos Electroforéticos/Electrocinéticos

La electroforesis capilar (EC) se ha estado aplicando al análisis toxicológico forense para la determinación de drogas en líquidos biológicos. Sin embargo, el uso de la EC en análisis de cabello aun esta limitada. La EC tiene varias ventajas potenciales las cuáles podrían ser útiles en el análisis de cabello, entre estas están: necesidad mínima de la muestra (con la posibilidad de repetir el análisis muchas veces en el mismo material), consumo insignificante de reactivo, mecanismos peculiares de la separación, alta sensibilidad y conveniencia para acoplarse a EM, particularmente con ESI.¹

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis cuantitativo de heroína en cabello es generalmente más difícil en comparación con la sangre y la orina. Esto es en gran parte debido a la naturaleza sólida y a la composición heterogénea del material de la muestra y de la cantidad escasa de material de referencia fidedigno. Las diferencias en las concentraciones son debidas a los procedimientos de extracción y a la degradación parcial de la sustancia. Hasta la fecha, ha habido una falta de consenso con respecto a la descontaminación del cabello y procedimientos de extracción, sin embargo, es recomendable realizar la calibración y validación incluyendo reproducibilidad, precisión y exactitud así como la determinación de LOD y de LOQ de la metodología utilizada.

Las ventajas mencionadas en esta investigación del uso del cabello, junto a una amplia ventana de detección, hacen que el análisis de detección de heroína en cabello sea más eficiente que el de otros fluidos biológicos y tejidos. No obstante, este tipo de análisis no está exento de controversia y problemas analíticos o propios del cabello, siendo el más importante el riesgo de resultados falsos positivos, por lo que estos deben ser interpretados con gran precaución, especialmente si tienen consecuencias legales o administrativas.

La combinación de diferentes métodos es necesaria para alcanzar un aceptable grado de confiabilidad analítica; respecto a esto la CG-EM juega un papel importante, igualmente la CLAR con detectores selectivos puede ser útil especialmente para análisis de rutina. Acerca de la EC puede ser una técnica prometedora y conveniente para el análisis del cabello por su alta selectividad; aunque se requiere estandarizar estas metodologías en los laboratorios toxicológicos, particularmente para el análisis de heroína en cabello.

El análisis del cabello ha tenido y seguirá teniendo un gran alcance en la investigación de drogas (terapéuticas e ilícitas).

10.CONCLUSIONES

- ➔ El cabello es una opción como matriz para el análisis de heroína, por tener características importantes en la detección debido a que tiene un amplio periodo de tiempo de detección, circunstancias menos embarazosas de recolección, y una mayor estabilidad contra los fluidos corporales u otros tejidos finos.

- ➔ La introducción de técnicas automatizadas y de métodos estandarizados para la preparación de la muestra permitirá, el uso de cabello para el análisis de heroína a gran escala y con un uso más general.

- ➔ A pesar de estos avances, se requerirá de científicos entrenados y capacitados en este campo, para continuar con la investigación y mejorarla cada vez más.

- ➔ El fin es que sea una herramienta útil y objetiva de la evidencia.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tagliaro F, Smith FP, De Battisti Z, Manetto G, Marigo M. Hair Analysis, a Novel Tool in Forensic and Biomedical Sciences: New Chromatographic and Electrophoretic/Electrokinetic Analytical Strategies. *J. Chromatogr. B.* **1997**; 689: 261-271.
2. Almond, B. Hair Analysis for Drugs: Defining the Ethical Questions. *Addiction.* **1994**; 89(3): 296-297.
3. Karačić V, Skender L, Brčić I, Bagarić A. Hair Testing for Drugs of Abuse: A Two-Year Experience. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **2002**; 53: 213–220.
4. Pötsch L, Skopp G, Rippin G. A Comparison of 3H-Cocaine Binding on Melanin Granules and Human Hair in Vitro. *Int. J. Legal Med.* **1997**; 110: 55–62.
5. Gentili S, Cornetta M, Macchia T. Rapid Screening Procedure Based on Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry for the Detection of Many Recreational Drugs in Hair. *J. Chromatogr. B.* **2004**; 801: 289–296.
6. Jurado C, Kintz P, Menéndez M, Repetto M. Influence of the Cosmetic Treatment of Hair on Drug Testing. *Int. J. Legal Med.* **1997**; 110:159-163.
7. Scheidweiler KB, Cone EJ, Moolchan ET, Huestis MA. Dose-Related Distribution of Codeine, Cocaine, and Metabolites into Human Hair Following Controlled Oral Codeine and Subcutaneous Cocaine Administration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**; 313 (2): 909-915.
8. Ursitti F, Klein J, Sellers E, Koren G. Use of Hair Analysis for Confirmation of Self-Reported Cocaine Use in Users with Negative Urine Tests. *Clin. Toxicol.* **2001**; 39(4):361–366.

9. Welch MJ, Sniegowski LT, Tai S. Two New Standard Reference Materials for the Determination of Drugs of Abuse in Human Hair. *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**; 376: 1205–1211.
10. Cognard E, Rudaz S, Bouchonnet S, Staub C. Analysis of Cocaine and Three of its Metabolites in Hair by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Using Ion-Trap Detection for CI/MS/MS. *J. Chromatogr. B.* **2005**; 826: 17–25.
11. Scheidweiler KB, Huestis MA. Simultaneous Quantification of Opiates, Cocaine, and Metabolites in Hair by LC-APCI-MS/MS. *Anal. Chem.* **2004**; 76 (15): 4358-4363.
12. Pragst F, Balikova MA. State of the Art in Hair Analysis for Detection of Drug and Alcohol Abuse. *Clin. Chim. Acta* **2006**; 370: 17–49.
13. Slobodan MJ, Snezana VJ. Control del Crecimiento del Pelo. *Dermatol. Online J.* **1998**; 4(1):2-10.
14. Cordero R, Paterson S. Simultaneous Quantification of Opiates, Amphetamines, Cocaine and Metabolites and Diazepam and Metabolite in a Single Hair Sample Using GC–MS. *J. Chromatogr. B.* **2007**; 850:423–431.
15. Segura J, Stramesi C, Redón A, Ventura M, Sánchez CJ, González G, San L, Montagna M. Immunological Screening of Drugs of Abuse and Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Confirmation of Opiates and Cocaine in Hair. *J. Chromatogr. B* **1999**; 724: 9–21.
16. Mieczkowski T. Drug Testing Technology-Assessing of Field Application. CRC Press; **1999**; p. 1-29.
17. Vargas AE. Medicina Legal. Trillas; **1996**; p. 321-324.

18. Knight B. Medicina Forense de Simpson. El Manual Moderno. México; **1991**; p. 324.
19. Kłys M, Rojek S, Kulikowska J, Bożek E, Ścisłowski M. Usefulness of Multi-Parameter Opiates–Amphetamines–Cocainics Analysis in Hair of Drug Users for the Evaluation of an Abuse Profile by Means of LC–APCI-MS-MS. *J. Chromatogr. B.* **2007**; 854: 299-307.
20. Hernández AF, Gil F, Pla A. Nuevas Perspectivas en el Análisis de Drogas de Abuso para el año. *Actual Médica.* **1997**; 746: 48-55.
21. Uhl M. Tandem mass Spectrimetry: A Helpful Tool in Hair Analysis for the Forensic Expert. *Forensic. Sci. Int.* **2000**; 107: 169-179.
22. Moeller MR, Fey P, Sachs H. Hair Analysis as Evidence in Forensic Cases. *Forensic. Sci. Int.* **1993**; 63: 43-53.
23. Balíková MA, Habrdová V. Hair Analysis for Opiates: Evaluation of Washing and Incubation Procedures. *J. Chromatogr. B.* **2003**; 789: 93–100.
24. Hubbard DL, Wilkins DG, Rollins DE. The Incorporation of Cocaine and Metabolites into Hair: Effects of Dose and Hair Pigmentation. *Drug Metab. Dispos.* **2000**; 28 (12): 1464–1469.
25. Cone EJ. Mechanisms of Drug Incorporation into Hair. *Ther. Drug. Moint.* **1996**; 148: 438-443.
26. Pötsch L, Skoop G, Moeller MR. Biochemical Approach on the Conservation of Drug Molecules During Hair Fiber Formation. *Forensic. Sci. Int.* **1997**; 84: 25-35.

27. Mieczkowski T. Assessing the Potential of a “Color Effect” for Hair Analysis of 11-nor-9-carboxy-D9-tetrahydrocannabinol: Analysis of a Large Sample of Hair Specimens. *Life Sci.* **2003**; 74: 463–469.
28. Skoop G, Pötsch L, Moeller MR. On Cosmetically Treated Hair Aspects and Pitfalls of Interpretation. *Forensic. Sci. Int.* **1997**; 84: 43-52.
29. Gottardo R, Bortolotti F, De Paoli, G, Pascali JP, Mikšík I, Tagliaro F. Hair Analysis for Illicit Drugs by using Capillary Zone Electrophoresis-Electrospray Ionization-Ion Trap Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A.* **2007**; 1159: 185–189.
30. Lewis RJ, Johnson RD, Hatstrup RA. Simultaneous Analysis of Thebaine, 6-MAM and Six Abused Opiates in Postmortem Fluids and Tissues Using Zymark® Automated Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B.* **2005**; 822: 137–145.
31. Wainhaus SB, Tzanani N, Dagan S, Miller ML, Amirav A. Fast Analysis of Drugs in a Single Hair. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **1998**; 9:1311-1320.
32. Wolff K. Biological Markers of Drug Use. *Psychiatry.* **2006**; 5 (12): 439-441.