

Revista de Toxicología
Asociación Española de Toxicología
revtoxicol@unex.es
ISSN (Versión impresa): 0212-7113
ISSN (Versión en línea): 1697-0748
ESPAÑA

2003

M. T. Contreras Montero / A. Hernández Jerez / A. Pla Martínez / J. Segura Noguera /
J. L. Valverde Villarreal / M. González Merino / S. González Martínez / R. Ventura
Alemany / R. de la Torre Fornell
EL LÍQUIDO PERICÁRDICO COMO MUESTRA RELEVANTE EN TOXICOLOGÍA
FORENSE

Revista de Toxicología, cuatrimestral, año/vol. 20, número 002
Asociación Española de Toxicología
Pamplona, España
pp. 86-87

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Universidad Autónoma del Estado de México

<http://redalyc.uaemex.mx>



entre el átomo de fósforo y el denominado grupo saliente, produciendo dos compuestos generalmente menos tóxicos que el organofosforado inicial. Se ha descrito la presencia de PTEs en una gran variedad de tejidos biológicos de mamíferos, peces, aves, moluscos y bacterias. La actividad PTE capaz de hidrolizar paraoxon (denominada paraoxonasa) de suero humano es una proteína dependiente de Ca^{2+} que se sintetiza en el hígado y circula en sangre unida a lipoproteínas de alta densidad. La PTE encontrada en la bacteria *Pseudomonas diminuta* posee en su centro activo 2 átomos de Zn^{2+} y es una firme candidata a ser utilizada en procesos de biorremediación de espacios contaminados por organofosforados y como antídoto frente a intoxicaciones por organofosforados.

Las carboxilesterasas (CbEs) (E. C. 3.1.1) son esterasas inhibidas por insecticidas organofosforados y carbamatos a través del bloqueo del residuo de serina de su centro activo. Los efectos tóxicos de los organofosforados y carbamatos derivan de la fosforilación o carbamitación de CbEs del sistema nervioso (acetilcolinesterasa, esterasa diana de neuropatía y otras CbEs). Sin embargo, en mamíferos (especialmente en suero) existe un grupo de CbEs de función fisiológica desconocida cuya inhibición no causa efectos tóxicos aparentes. Estas esterasas son capaces de retirar del medio una molécula de organofosforado por cada molécula de enzima, impidiendo así que el tóxico alcance las dianas en sistema nervioso. Por tanto las CbEs, si bien con una eficacia menor que las PTEs, también pueden considerarse implicadas en los procesos de destoxicación de organofosforados. Este sistema de destoxicación es el empleado por determinadas cepas de insectos resistentes a organofosforados que sobreexpresan determinadas CbEs que eliminan organofosforados del medio a través de la fosforilación de sus centros activos. Las albúminas séricas también expresan actividades PTEs. Las albúminas séricas hidrolizan organofosforados de una manera no dependiente de metales con una mucho menor eficacia que las PTEs dependientes de Ca^{2+} y asociadas a lipoproteínas. El mecanismo de hidrólisis parece basado en una fosforilación reversible de un residuo de tirosina. Al igual que en el caso de las CbEs que otorgan resistencia a organofosforados en insectos, la eficacia de la albúmina como enzima destoxicadora de organofosforados no estaría basada en la eficacia catalítica de la hidrólisis, sino en el alto número de moléculas de enzima presentes en el suero. La actividad PTE de albúmina sérica podría explicar el hecho de que no se detecte incremento de sensibilidad a paraoxon en ratones modificados genéticamente que no expresan paraoxonasa dependiente de Ca^{2+} .

Diversas monografías técnicas describen la hidrólisis de carbamatos y piretroides como un mecanismo de destoxicación eficaz. Dado que la estructura química de estos insecticidas es la de ésteres carbámicos y carboxílicos, cabe pensar que serán las CbEs las enzimas implicadas en la hidrólisis de estos compuestos. Sin embargo, sólo existen estudios bioquímicos detallados sobre las CbEs hidrolizantes de carbamatos en bacterias, no habiéndose realizado dichos estudios en vertebrados.

Recientemente se ha demostrado que la albúmina de suero de conejo es capaz de hidrolizar el carbamato carbaryl mediante un mecanismo similar al que utiliza para la hidrólisis de organofosforados. Sin embargo, se desconoce si existen otras proteínas en suero u otros tejidos con capacidad de hidrolizar carbamatos.

Como conclusión se deberían remarcar que: 1) Es necesario esclarecer el papel que juegan las actividades PTEs asociadas a albúmina en la hidrólisis de organofosforados a concentraciones bajas, toxicológicamente relevantes y 2) Es necesario un estudio sistemático de clasificación y caracterización de las esterasas de vertebrados implicadas en la destoxicación de carbamatos y piretroides.

Agradecimientos: M.A. Sogorb es investigador contratado con

ayudas del Ministerio de Ciencia y Tecnología y de la Generalitat Valenciana.

TOXICOLOGÍA FORENSE

EL LÍQUIDO PERICÁRDICO COMO MUESTRA RELEVANTE EN TOXICOLOGÍA FORENSE. MT Contreras Montero¹, A Hernández Jerez², A Pla Martínez², J Segura Noguera³, JL Valverde Villarreal¹, M González Merino³, S González Martínez³, R Ventura Alemany³, R de la Torre Fornell³

¹Instituto Nacional de Toxicología Departamento de Barcelona

²Departamento Medicina Legal y Toxicología, Facultad de Medicina de Granada

³IMIM Instituto Municipal de Investigación Médica de Barcelona

El líquido pericárdico podría constituir una alternativa válida a la sangre como fluido biológico donde practicar análisis de drogas de abuso y de otros fármacos en el ámbito de la toxicología forense. Debido a su parecido físico químico al plasma presenta ciertas ventajas analíticas (en cuanto a matriz biológica) con respecto a la sangre total, sobre todo en aspectos relacionados con la calidad de la muestra en medicina forense, por lo que debería considerarse una muestra más idónea.

La selección de muestras adecuada para el análisis y su correcta conservación son requisitos indispensables en la investigación toxicológica. La sangre es el espécimen fundamental para identificar, cuantificar e interpretar concentraciones de tóxicos. Históricamente, la mayoría de los estudios publicados han sido con datos significativos determinados en sangre. La muestra de sangre postmortem está a menudo hemolizada y putrefacta y no es posible la separación del plasma, pero en algunos casos es la única muestra disponible.

El líquido pericárdico, se encuentra preservado en el saco pericárdico (compartimento estanco), casi libre de contaminación de los microorganismos, que protege el corazón evitando dilataciones y desplazamientos excesivos del mismo. Como muestra forense tiene ventajas tanto para los médicos forenses, al no ser complicada su obtención, como para los laboratorios toxicológicos forenses, ya que es mucho más fácil trabajar con ella que con una muestra de sangre, incluso si esta se encuentra en buenas condiciones, al estar libre de los elementos celulares del tejido hemático y por tanto está libre de los problemas de hemólisis y coagulación. De hecho, el líquido pericárdico recibido durante el transcurso del estudio, casi dos centenares de muestras de dicho fluido, se recibió en todos los casos en muy buenas condiciones, mientras que en algunos casos las muestras de sangres recibidas estaban hemolizadas y coaguladas.

El líquido pericárdico por su composición es equivalente a un ultrafiltrado del plasma. Se puede comprobar que las concentraciones son muy similares en ambos fluidos, excepto en el pH, pues el líquido pericárdico está menos tamponado que la sangre, por lo que es más ácido que ésta.

Se ha realizado un trabajo novedoso de investigación toxicológica de drogas de abuso en Líquido Pericárdico. Los analitos objeto de este estudio son la morfina, codeína, cocaína, benzoinlecgonina y cocaetileno.

Se recogieron varias decenas de casos y se han podido incluir 54. Se recogieron además más de 100 muestras control de líquido pericárdico de individuos que fallecieron como consecuencia de politraumatismos, accidentes de tráfico, etc. en los que la causa de la muerte no estuviera relacionada con drogas de abuso.

Las metodologías analíticas desarrolladas para el líquido pericárdico no difieren sustancialmente de las utilizadas rutinariamente y aplicadas a otros líquidos biológicos. Esto es de gran importancia para un laboratorio de toxicología forense, ya que

demuestra que no es necesario desarrollar métodos específicos. En el presente trabajo se ha podido demostrar que la obtención de líquido pericárdico de forma sistemática en el momento de la autopsia es factible y que tanto la calidad de la muestra como el volumen recogido es suficiente para practicar determinaciones de drogas y fármacos.

En general es más factible obtener una muestra de mayor calidad con el líquido pericárdico en cualquier estado del cadáver cuando se compara con la obtención de sangre total que puede estar sometida a procesos de putrefacción, coagulación y hemólisis.

Han sido validadas metodologías analíticas para la determinación de cocaína y metabolitos así como de morfina y codeína en líquido pericárdico introduciendo pequeñas modificaciones en métodos desarrollados para otros fluidos biológicos. Como consecuencia el desarrollo de métodos analíticos para la determinación de drogas y fármacos en dicho fluido no comporta desarrollos específicos condicionados por la matriz que por otra parte ha demostrado un comportamiento muy parecido al del plasma. La determinación de drogas y fármacos no está condicionada por la disponibilidad de líquido pericárdico libre de los mismos para la preparación de materiales de control y calibración ya que se ha demostrado que es intercambiable con el plasma. Siendo este último fluido biológico de más fácil obtención a través de los bancos de sangre hospitalarios.

La comparación de concentraciones en sangre total y en líquido pericárdico ha demostrado una excelente correlación para la determinación de la benzoilecgonina, principal metabolito de la cocaína. La menor correlación encontrada con la morfina está sesgada por las distintas aproximaciones metodológicas aplicadas a la preparación de muestras. Ello demuestra la utilidad del líquido pericárdico como alternativa a la sangre total para la práctica de análisis toxicológicos.

El perfil demográfico de la muestra estudiada es similar al descrito por el Plan Nacional para la Droga para Barcelona en el año 1999. La gran mayoría de los casos estudiados fueron positivos a morfina. Asimismo, se ha detectado un importante policonsumo de drogas, pues el 92.6% de la muestra presentaba dos o más sustancias en sangre, de las cuales una de ellas era la morfina, acompañada en orden decreciente por nordiazepam, cocaína, alcohol y metadona.

La utilidad de los resultados de este estudio es la inclusión del líquido pericárdico en los protocolos de recogida de muestras por parte de los médicos forenses, ya que hasta el momento la utilización de este fluido biológico como muestra forense no estaba contemplada en ninguna norma o protocolo. Por este motivo, se ha propuesto la inclusión en próximas revisiones de la Orden Ministerial de 8 de noviembre de 1996, por la que se aprueban las normas para la preparación y remisión de muestras objeto de análisis por el Instituto Nacional de Toxicología, del líquido pericárdico como muestra útil para el estudio de análisis de drogas.

ANTECEDENTES DE LA TOXICOLOGÍA FORENSE EN ESPAÑA. A Vingut

Jefe del Servicio de Química del Instituto de Toxicología de Barcelona.

Desde principios del siglo XIX, la evolución de la toxicología forense en España ha ido de la mano de la propia medicina legal, aunque siempre se ha diferenciado el trabajo específico de los toxicólogos forenses (que precisaban de profundos conocimientos en la ciencia química) de las cuestiones médico-legales (encomendadas a los conocedores de las artes médicas, es decir a los médicos legistas).

La necesidad por parte de la Administración de Justicia de resolver las cuestiones referentes a los envenenamientos es muy anti-

gua. De hecho, aparece en el momento en que la ley contempla como un delito con entidad propia el dar muerte a un semejante mediante la utilización de un veneno. Esto se produce en España hace más de 2000 años, en plena dominación romana.

Durante muchos siglos, hasta que no se produjo la aparición de las ciencias experimentales y el desarrollo de los análisis químico-analíticos, la impunidad de los envenenadores fue prácticamente total. No había posibilidad de detectar la presencia del tóxico responsable en el cuerpo de la víctima y únicamente con pruebas circunstanciales (como su estado de salud previo al episodio mortal o el conocimiento de la obtención o compra, por parte del inculcado, de una sustancia potencialmente tóxica días antes, así como la interpretación de la sintomatología del supuesto envenenado, la observación de la apariencia del cadáver y los hallazgos macroscópicos en la autopsia) se resolvían dichas cuestiones, errando en muchos casos y castigando cruelmente a inocentes así como dejando sin su justo castigo a gran número de culpables.

En aquellos tiempos, el asesoramiento legal en un caso de envenenamiento corría a cargo de los médicos y cirujanos, los cuales, sin embargo, poco o nada podían hacer para dilucidar si la causa real de la muerte había sido debida o no a la administración de un tóxico.

De hecho, existe constancia documentada de la realización de autopsias judiciales en casos de envenenamiento ya en el siglo XII. En el reino de Aragón se hicieron frecuentes a partir de mediados del siglo XIV y eran realizadas por los *dessuspitadors*, médicos y cirujanos que realizaban peritaciones médico-legales (*dessuspitacions*) de toda índole, y entre ellas el estudio médico-legal de los envenenamientos.

Hasta el siglo XIX, las peritaciones toxicológicas siguieron siendo realizadas por médicos y cirujanos, en la mayoría de los casos sin ninguna experiencia en la materia, puesto que los saberes médico-legales estaban en general muy descuidados, sin verdaderos especialistas en esta importante rama del saber, lo cual desprestigiaba enormemente a la profesión médica a causa de la actuación de estos frente a los tribunales. Hasta ese momento, tanto las obras destinadas a la formación de los cirujanos como los planes de estudio de los nacientes Colegios de Cirugía omitían entre sus enseñanzas cualquier tipo de alusión a la medicina legal.

No es hasta 1783 que Domingo Vidal, profesor del Real Colegio de Cirugía de Barcelona, publica su obra "Cirujía forense ó Arte de hacer los informes y declaraciones Chirurgico-legales", que tiene como precedente en España una anterior de Juan Fragozo "Tratado de las declaraciones que han de hacer los cirujanos acerca de muchas enfermedades y muchas maneras de muertes que suceden", incluida dentro de su obra "Cirugía Universal", del año 1572. En la obra de Vidal, de 128 páginas, se vislumbra un cambio de actitud respecto al interés e importancia de los conocimientos médico-legales.

En los inicios del siglo XIX, continúan siendo únicamente médicos los encargados de hacer las peritaciones en casos de sospecha de envenenamiento. Sin embargo, muy pronto el panorama da un giro radical al conocerse los trabajos realizados en Francia por el menorquín Orfila. Los análisis químicos se hacen imprescindibles y en muchas ocasiones es necesario descubrir la presencia de la sustancia responsable del envenenamiento como evidencia de que éste ha tenido lugar. Es en este momento cuando la medicina legal y la toxicología forense empiezan a bifurcar sus caminos, pues se requiriere un profundo conocimiento en las ciencias químicas para abordar con garantías la enorme complejidad de los análisis que se solicitan.

Fueron numerosos los problemas que surgieron en todos estos años, principalmente de orden económico y competencial. Los análisis químico-toxicológicos, principalmente encomendados a