

Nuevas técnicas de investigación forense: tejido adiposo, una alternativa para la identificación de causa de muerte por sustancias tóxicas.

New techniques of forensic investigation: adipose tissue, an alternative for the identification of cause of death by toxic substances.

Fecha de presentación: 30 abril 2018
Fecha de aceptación: 12 noviembre 2018

Raúl Campos Smith
Colegio Libre de Estudios Universitarios Campus León.

22

“Tóxico, que es venenoso o que puede causar trastornos o la muerte”

Resumen

Las ciencias Forenses evolucionan, así en cuanto al análisis de nuevas técnicas de investigación criminal, para colaborar con la justicia y llevar a los responsables a la cárcel. El sistema de análisis en tejido adiposo como medio alternativo de la identificación de la causa de muerte por fármacos, es una matriz alternativa de elección para disminuir costos de exámenes toxicológicos, determinar responsabilidad médica y detectar drogas y/o sustancias de abuso, todo con objetividad y eficacia.

Palabras clave

Tejido adiposo, negligencia médica, drogas de abuso, drogas liposolubles, exámenes toxicológicos.

Abstrac

Forensic sciences evolve, as well as in the analysis of new techniques of criminal investigation, to collaborate with justice and bring those responsible to jail. The analysis system in adipose tissue as an alternative means of identifying the cause of death by drugs, is an alternative matrix of choice to reduce costs of toxicological tests, determine medical responsibility and detect drugs and / or substances of abuse, all with objectivity and effectiveness.

Keyword

Adipose tissue, medical responsibility, drugs of abuse, liposoluble drugs, toxicological examinations.

INTRODUCCIÓN

El tejido adiposo se encuentra distribuido en distintas localizaciones en el organismo. Estos depósitos se encuentran principalmente a escala dérmica, subcutánea, mediastínica, mesentérica, perigonadal, perirrenal y retroperitoneal. Además, se distinguen dos grandes tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco y el tejido adiposo pardo o marrón. Ambos no presentan diferencias únicas y exclusivamente en cuanto a coloración, sino también en cuanto a su morfología, distribución, genes y función.

La mayor o menor acumulación de grasa en unas zonas que en otras del organismo viene determinada por las variaciones regionales en el balance entre los procesos de movilización o almacenamiento lipídico. En este sentido, mientras que las mujeres suelen presentar una acumulación preferentemente periférica de la grasa, los hombres suelen presentar una distribución central o abdominal. Este proceso parece ser debido a que en las mujeres están más acentuados que en el hombre los procesos que favorecen la movilización lipídica en los depósitos de grasa viscerales y los que facilitan el almacenamiento de lípidos en los tejidos periféricos subcutáneos grasos (Marti, Berraondo, & Martínez JA, 1999). También en situaciones de obesidad se observan sujetos con obesidad periférica y sujetos con obesidad abdominal. Es esta última la que está relacionada con el desarrollo de complicaciones metabólicas y cardiovasculares, porque las diferencias regionales en la lipólisis entre la grasa visceral y subcutánea son más marcadas en personas con obesidad abdominal, presentando una menor respuesta lipolítica a catecolaminas en la grasa subcutánea abdominal y una estimulación de la actividad lipolítica en la grasa visceral.

El tejido adiposo posee una gran cantidad de receptores para distintos estímulos, explican la sensibilidad y adaptación del tejido adiposo a las múltiples circunstancias metabólicas (Rosell Puig, Dovale Borjas, & Álvarez Torres).

Desde el punto de vista funcional se ha considerado al tejido adiposo blanco como un depósito de energía, aunque actualmente se le reconoce un gran número de funciones.

El tejido adiposo pardo, en cambio desempeña una función termogénica y tal vez amortiguadora de ingresos energéticos excesivos.

Gran variedad de fármacos y compuestos orgánicos son de alta liposolubilidad, característica que les permite una rápida penetración a través de las

membranas celulares y ser así captados por los tejidos mismos. La liposolubilidad hace que se distribuyan, se depositen y se concentren en la grasa corporal.

TEJIDO ADIPOSO Y TÓXICOS

Varios y abundantes fármacos y compuestos orgánicos son altamente liposolubles, pues esta es una característica que permite una rápida penetración en las membranas celulares; esto quiere decir que son captados por los tejidos de naturaleza adiposa (grasa corporal). Esta característica y propiedad del tejido hace que se distribuyan y concentren en la grasa corporal, pues ya existen estudios previos en los que se revela, se comprueba y verifica la presencia de una serie de compuestos orgánicos como por ejemplo el Clordane, DDT, bifenilos policlorados, bifenilos polibromados y otros alojados en este tejido (García Fernández, Astolfi, & Piacentino, 1974)

Para lograr una explicación clara y precisa, los tóxicos se almacenarían en grasa por una simple disolución física en las grasas neutras que contiene el adipocito. Las grasas neutras constituyen aproximadamente el 50 % del peso corporal de un individuo obeso, alrededor del 20 % del peso corporal de un individuo delgado y en individuos con inanición puede ser de un 10 % (Locani, Perkins de Piacentino, Ginesín, & Mangas).

Ahora, volvamos al tema de los tóxicos. Se ha comprobado que un tóxico que tenga un alto coeficiente de partición en la relación lípido/agua, puede ser almacenado en el tejido adi-

posado (grasa corporal) por un tiempo bastante prolongado, estar disminuida su concentración en el órgano diana (órgano donde se debe alojar el tóxico); lo cual es sumamente interesante, pues actuaría como un mecanismo protector del organismo y esto ha llevado a pensar que la toxicidad de unos compuestos que se depositan en la grasa corporal podría no ser la misma, difiriendo en un individuo delgado a uno obeso.

Entonces, la grasa o tejido adiposo, constituye un depósito bastante estable por su flujo sanguíneo relativamente lento, además de que la mayoría de los fármacos en su estructura no salificada se comportan mayoritariamente como sustancias químicamente no polares, lo que finalmente da como conclusión de que son liposolubles, siendo que la grasa sea un excelente depósito para ellos.

En otras palabras, se deben de tomar en cuenta es que las drogas lipofílicas pueden ser almacenadas en tejido adiposo luego de una exposición crónica, además de servir como un depósito de las mismas. Ahora, entremos de lleno en los casos posibles de aplicación.

DROGAS LIPOSOLUBLES Y MEDICAMENTOS QUE SE DEPOSITAN EN TEJIDO GRASO.

Los casos en los que se puede aplicar este tipo de estudios principalmente son en envenenamientos, negligencias médicas, abuso de sustancias entre otros aspectos y situaciones en el que un fármaco, tóxico o cualquier sustancia ajena al cuerpo sea liposoluble.

Sparber y col. observaron que un stress moderado como es

**“El DDT
(dicloro difenil
tricloroetano) es un
pesticida”**

una marcha durante 15 minutos en ratas, a las cuales se les había administrado seis inyecciones diarias de 2.5 mg de d-anfetamina/kg, movilizaban droga desde el tejido adiposo y duplicaban los niveles en el cerebro de anfetamina. De modo similar, la fenciclidina y sus metabolitos persistieron por largos períodos de tiempo en el cerebro de ratas y tejido adiposo luego aún de una sola inyección intraperitoneal acumulando la droga. Los autores concluyen que la liberación de fenciclidina y sus metabolitos desde éstos depósitos, pueden producirse ante falta de alimentación, pérdida de peso o stress que explicarían luego de la administración de fenciclidina, la prolongada duración de los efectos clínicos observados (Golman & Gilman)

Ya en el año 1954, Von U. Schwabe, publica hallazgos de DDT en grasa humana siguiendo más tarde otras publicaciones referidas al hallazgo de diferentes insecticidas organoclorados en éste tipo de tejido.

En el año 1967, García Fernández J. C. y col. publican sus hallazgos de DDT y DDE en grasa humana en la República Argentina y en el año 1974 queda documentado el trabajo de García Fernández y col., que se refiere al estudio de 52 muestras de grasa de cadáveres de niños argentinos, de entre 0 y 16 años, donde encuentran pesticidas organoclorados en ellos, ampliando el estudio, ya que encontraron: DDT, DDE, alfa BHC, beta BHC, gama BHC, Dieldrin, Aldrin, Heptacloro y Heptacloro epóxido (Locani, Perkins de Piacentino, Ginesín, & Mangas).

Lo anteriormente citado hace inferencia en la presencia de los plaguicidas en muestras de grasa corporal, lo que queda preestablecida para los tóxicos como tejido de depósito para estas sustancias lo que es el tejido adiposo. A partir de ello, además de tener en cuenta los conceptos antes enunciados sobre las características fisicoquímicas de los fármacos, se da pauta a la consideración del uso del tejido adiposo como método alternativo de identificación de tóxicos, resaltando a la grasa como un tejido de elección para la investigación de ingestas de compuestos orgánicos, permitiendo efectuar interpretaciones del historial farmacológico del individuo a examinar.

Otro punto importante que es necesario mencionar es sobre las drogas de abuso. Una de ellas y la más común utilizada hoy en día es el uso de la marihuana, cuyo compuesto activo es el THC (tetrahidrocanabinol). El THC y otros



químicos cannabinoides en la marihuana son similares a los químicos cannabinoides que el cuerpo produce naturalmente (National Institute of Drug Abuse, 2015). Pero, lo interesante aquí es que el THC es otro compuesto altamente lipofílico que ha sido hallado por GC/MS en la grasa de consumidores de altas cantidades de marihuana a más de 28 días del último consumo. Las concentraciones de tetrahidrocanabinol se hallaron en un rango entre 0.4 y 193 kg/g. La larga vida media del THC, estimada en más de 3 días, indicarían que la droga se acumula y es liberada desde el tejido adiposo.

Para confirmar la teoría de la matriz de elección como medio alternativo para análisis de sustancias de abuso en tejido adiposo, se realizó una serie de estudios sistematizados, con orden metodológico, empleando muestras provenientes de necropsias y de seres vivos en diferentes procesos quirúrgicos destinados a la eliminación de tejido graso, a saber (Locani, Perkins de Piacentino, Ginesín, & Mangas):

Para poder confirmar la hipótesis sostenida, se desarrolla una técnica sencilla y económica, la que se mostró reproducible y con datos repetitivos transformándola en un sistema extractivo confiable y por ende de elección para procesar una matriz tan difícil de procesar como es la materia grasa y que es descripta como tal en la numerosa bibliografía consultada.

TÉCNICA:

I-Preparación de las muestras:

Materiales:

1. Ac. HCL 10%
2. Papel Whatman N° 1
3. NH3 concentrado.
4. Columnas de Extrelut (R) de 20 ml. (dos).
5. Cloroformo p.a.
6. Placas de HPTLC sílica 60 F254 Merck.
7. Etanol 96°.
8. Solventes de desarrollo para extractos ácido y alcalino:
 - a) Cloroformo-Acetona (80:20)
 - b) Butanol-Metanol (40:60)
 - c) Metanol-NH3 (100:1.5)
 - d) Benceno-Ciclohexano-Dietilamina (15:75:10)
9. Lámpara UV 254-366 nm.
10. Agentes cromogénicos según técnica de Investigación Secuencial Diferenciada de Venenos Orgánicos Fijos: O. A. Locani y col.

Método:

- a) Se pesa el material adiposo (preferentemente 20 -50 g) libre de músculo.
- b) La alícuota de trabajo se corta con ayuda de bisturí hasta obtención de una papilla.
- c) Se colocan 35 ml. de Reactivo 1 homogeneizando por agitación.

“Medicamentos que se depositan en tejido graso”

- d) Se deja en reposo en campana a temperatura ambiente 72 hs, homogeneizando c/24 hs.
- e) Se filtra la papilla a presión reducida.
- f) El líquido de filtrado se recoge en vaso de precipitado y se friza (- 20° C) hasta solidificación de la fase lipídica.
- g) Se retira la fase lipídica solidificada y descarta.

Extracción de drogas:

La fase acuosa acidificada obtenida se divide en dos partes iguales: alícuota 1 y alícuota 2.

- Método de extracción ácido:
La alícuota 1 se incorpora a R 4. Se deja interac-

Estudio cromatográfico:

- a) Extracto ácido:
- b) Extracto alcalino:
- Procedimiento:

Los extractos obtenidos son reconstituidos con 0.5 ml. de R7 y se dividen en dos volúmenes iguales para ser sometidos a diferentes estudios cuali y cuantitativos.

Se efectúa el depósito de las muestras en R6, sembrando con soluciones testigo correspondientes a drogas de extracción H+ y OH- separadamente.

Se realiza el desarrollo cromatográfico en R8 para A Y B. Se secan las placas en corriente de aire, se observan bajo R9 y se revelan según R10.



tuar 15 min. y luego se eluye con 40 ml. de R 5. El eluido se evapora a temperatura ambiente bajo corriente de nitrógeno.

- Método de extracción alcalino:
La alícuota 2 se alcaliniza con R 3 a pH 10-11. Se incorpora a R 4 y deja interactuar 15min., luego se eluye con 40 ml. de R 5.
Es de hacer notar que con la metodología desarrollada los extractos obtenidos resultaron de calidad cromatográfica, no resultando necesaria la aplicación de metodologías de purificación para el aislamiento del analito, eliminando de ésta manera procesos unitarios que como bien sabemos cada uno de ellos per se, llevan a cometer errores sistemáticos que implican pérdida de componentes y consecuentemente mayor dificultad en los procesos de identificación y cuantificación.

Confirmación de los resultados:

La confirmación de las sustancias halladas se realiza mediante Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masa (GC-MS), de ionización por impacto electrónico.

Equipo: Cromatógrafo de gases Shimadzu GC-17. Detector selectivo de masas Shimadzu QP-5000. Columna Ultra 1 Hewlett Packard de 25 m x 0.2 mm x 0.33 um.

Método de valoración:

- Mediante Cromatografía en Fase Gaseosa.
- Instrumental: Cromatógrafo VARIAN CP-3800
- Temperatura del inyector: 280°C.
- Temperatura del detector: 300°C.
- Programa de la temperatura de columna:
- Temperatura inicial: 100°C.
- Incremento: 20°C/minuto.
- Temperatura final: 280°C.
- Detector: Termoiónico Específico.
- Columna: CHROMPACK WCOT Fused Silica CP-Sil 8CB 25 mm x 0.32 mm DF- 0.25

MÉTODOS COMPROBADOS EN MUESTRAS CADAVÉRICAS. CASOS FORENSES:**Caso nº 1****Antecedentes**

Cadáver sexo masculino, edad 39 años. Ingres a centro asistencial por fuertes dolores abdominales, al ser intervenido quirúrgicamente se le extraen 39 cápsulas de manufactura casera, con un peso promedio de 9gs recubiertos con látex, enteros. Es derivado a terapia intensiva, con mala evolución, falleciendo a las 48 hrs.

Hallazgo de autopsia: Se comprueba obstrucción de asa intestinal por trozo de látex. Carátula de la causa: "Muerte por causa dudosa de criminalidad".

Material de Peritación	TLC H+ OH-	GC-Masa H+ OH-	Valoración H+ OH-
Sangre	Negativo Cafeína	Negativo Cafeína	Trazas no valorables
Orina	-----	-----	-----
Estómago	-----	-----	-----
Víseras	Negativo	Negativo	-----
Tejido Adiposo	Diazepam Midazolam Cafeína Lidocaína Etilloflazepato	Diazepam Midazolam Cafeína Lidocaína Etilloflazepato	0.02 ug/g 0,09 ug/g 0.06 ug/g 0.03 ug/g 0.03 ug/g Trazas no valorables
Pelo	Negativo	Negativo	-----
Humor Vítreo	Negativo	Negativo	-----

Análisis de asa intestinal: Negativo.

Comentarios: En sangre se encuentra cafeína en trazas no valorables mientras que en tejido adiposo se encontró Diazepam, Midazolam, Cafeína, Lidocaína y Etilloflazepato en concentraciones consignadas según cuadro.

Las drogas halladas: Diazepam, Midazolam, Lidocaína y etiloflazepato habían sido administradas durante la intervención quirúrgica a la que se sometió al paciente, según consta en su historia clínica.

Caso nº 2**Antecedentes**

Cadáver sexo masculino, de 47 años, médico. Hallado sin vida en su cama, en posición decúbito dorsal con una vía endovenosa colocada en su vena. Diagnóstico de autopsia: congestión y edema pulmonar. Carátula de la causa: "Averiguación sobre suicidio".

Material de Peritación	TLC H+ OH-	GC-Masa H+ OH-	Valoración H+ OH-
Sangre	Negativo Ketamina	Negativo Ketamina	Trazas no valorables
Orina	Negativo	Negativo	-
Estómago	Negativo	Negativo	-

Víseras	Negativo	Negativo	-----
Tejido Adiposo	Neg. Ketamina Neg. Clomipramina	Ketamina Clomipramina	0.69 mcg/g 0.30 mcg/g
Hisopado nasal	Negativo	Negativo	-----
Humor Vítreo	Negativo	Negativo	-----
Piel zona de puntura	Ketamina	Ketamina	No valorables

Comentarios: El tejido adiposo permitió detectar la presencia de Clomipramina que no se había hallado en las otras muestras remitidas.

Caso nº 3

Antecedentes

Cadáver sexo masculino, de 43 años. Hallado con vida en la habitación de un hotel tirado en el piso entre la cama y el baño, recibió asistencia médica, falleciendo en la misma habitación. Se halló cocaína en el lugar del hecho. Diagnóstico de autopsia: congestión y edema pulmonar. Carátula de la causa: "Muerte por causa dudosa de criminalidad".

Material de Peritación	TLC H+ OH-	GC-Masa H+ OH-	Valoración H+ OH-
Sangre	Neg. Cafeína Cocaína Metilecgonina Cotina	Neg. Cafeína Cocaína Metilecgonina Cotina	Trazas Trazas Trazas Trazas
Orina	-----	-----	-----
Estómago	Negativo	Negativo	-----
Víseras	Cocaína Benzoilecgonina Metilecgonina		
Tejido Adiposo	Neg. Cocaína Benzoilecgonina Metilecgonina Lidocaína Cafeína Cocaetileno	Neg. Cocaína Benzoilecgonina Metilecgonina Lidocaína Cafeína Cocaetileno	1.66 mcg/g ----- 0.50 mcg/g ----- 0.04 mcg/g Trazas
Hisopada nasal	Cocaína	Cocaína	-----
Hisopado anal	Negativo	Negativo	-----
Pelo	Cocaína Metilecgonina Nicotina	Cocaína Metilecgonina Nicotina	0.04 mcg/g ----- -----

Comentarios: Demostró el tejido adiposo ser un útil material de análisis ya que amplió el hallazgo de los metabolitos de la Cocaína, como ser Cocaetileno y Benzoilecgonina, permitiendo encontrar además analitos como Lidocaína y Cafeína frecuentes sustancias utilizadas para estirar o adulterar la droga que se comercializa en la calle.

Caso nº 4

Antecedentes

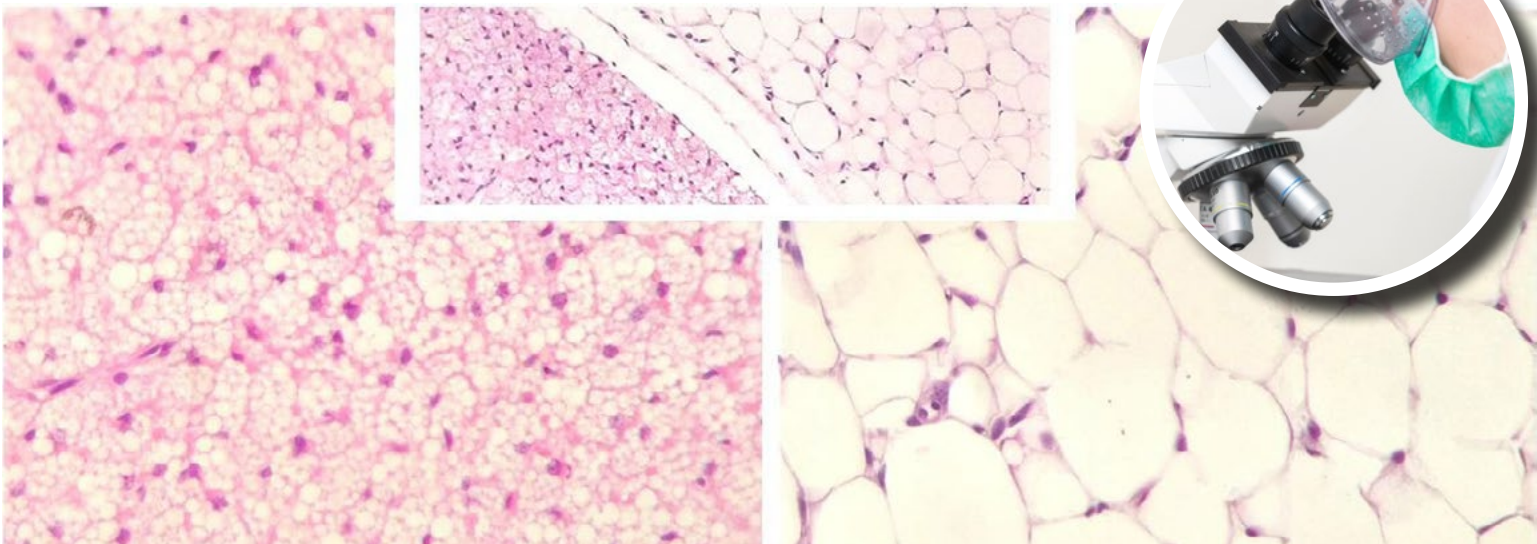
Cadáver de sexo femenino, edad no consignada en expediente, inhumado en nicho fue exhumado a 18 meses del deceso.

*Cadáver putrefacto.

Material de Peritación	TLC H+ OH-	GC-Masa H+ OH-	Valoración H+ OH-
Sangre	-----	-----	-----
Orina	-----	-----	-----
Estómago*	Negativo	-----	-----
Vísceras*	Negativo Prometazina	Negativo Prometazina	Trazas no cuantificables
Tejido Adiposo	Prometazina Prometazina Midazolam Midazolam	Midazolam Midazolam 0.06 ug/g 0.04 ug/g	Prometazina Prometazina 0.02 ug/g 0.03 ug/g
Pelo	Negativo	Negativo	
Humor Vítreo			

28

Comentarios: En la pericia toxicológica se encontró en vísceras: Prometazina y en tejido adiposo: Prometazina y Midazolam. Dichas drogas le habían sido administradas durante su internación respectivamente 24 y 48 hs. previas a su fallecimiento, según consta en la historia clínica del paciente.



CONCLUSIONES

El tejido adiposo no ha sido aún considerado por los toxicólogos como una matriz de elección para la indagación de los distintos grupos de sustancias y elementos que hacen a la investigación sistemática analítica toxicológica.

La dificultad existente para obtener y procesar éste tipo de material se entiende, pues no se había tomado en cuenta o no se habían hecho estudios enfocados en este tejido; pero una vez hecho realizado, dio como resultado una vía fácil, poco costosa y de confiabilidad gracias a los resultados arrojados en la investigación de su análisis.

También es cierto que se daba por hecho que, por sus características, los tejidos grasos no actuaban como reservorio concentrador de drogas, fármacos o tóxicos, y la metodología disponible muy lejos de poseer la especificidad y sensibilidad de nuestras modernas tecnologías, daban como válida esta errónea interpretación.

Con los resultados arrojados en este trabajo y con la metodología implementada, podría ser una vía de identificación en la sede pericial de alguna manera y ser de complemento en la investigación de causa de muerte en dependencias de gobierno establecidas; ya que, con lo reseñado, los resultados obtenidos fueron favorables, sencillos, económicos y viables para el establecimiento de causa de muerte del occiso.

Entendemos que el hallazgo de drogas en tejido adiposo y que cuando no se encontraban en fluidos biológicos ni en tejido proteico-visceral, dan cuenta de la importancia de la grasa como matriz no tradicional para determinar en casos de muerte, el historial farmacológico del cadáver y establecer científicamente datos que puedan colaborar en la investigación judicial que orilló a realizar una necropsia médico-legal, como en los inicios en la toxicología, las causas mediatas de la muerte.

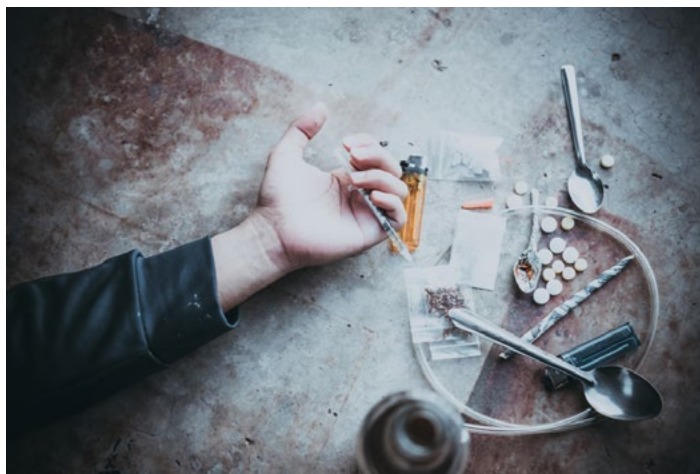
También podemos hacer estudios de esta índole en pacientes quirúrgicos, ya que esto nos permite detectar la presencia de compuestos suministrados intra-operatorios y de sustancias suministradas e incorporadas con premeditación y también otras sustancias que eran consumidas por el paciente como medicación base o en su dieta normal.

Se concluye que si bien la grasa no es una matriz alternativa de identificación de causa de muerte por sustancias o fármacos, de fácil obtención y que pueda ser de apoyo para estudios de rutina en la investigación, se entiende que sí debe ser de evidencia en casos forenses, sobre todo en cadáveres putrefactos, por ser el tejido más resistente a los procesos

de desintegración por excelencia; y en pacientes sometidos a lipocirugías para prevenir procesos de mala praxis que puedan estar motivados en los antecedentes farmacológicos de estos últimos y que no fueran declarados por el mismo cuando el médico tratante confeccionó la historia clínica e interrogó sobre estos aspectos, detectando así negligencia médica entre otros delitos de índole médica.

El consumo de drogas anorexígenas (una sustancia supresora o depresora del apetito), y/o de abuso en general como también de fármacos no recetados producto de una automedicación irresponsable, la interacción no sospechada por la presencia de fármacos preexistentes en el individuo con los indicados por el cirujano previo al acto quirúrgico, pueden derivar en causas judiciales como consecuencia de trastornos en la salud de diferente magnitud e involucrar al médico en un proceso legal de impredecibles consecuencias para su futuro profesional, y que hubiera sido evitado de contarse con todos los antecedentes médico-clínico-farmacológico- toxicológico de quien requirió la intervención médica.

“Mala praxis”



BIBLIOGRAFÍA

- García Fernández, J., Astolfi, D., & Piacentino, J. (1974). Clorinated pesticides found in the fat children in the Argentine Republic. Congreso dell Associazione Europea dei Centri Antiveneni. Ischia.
- Golman, & Gilman. (s.f.). Las bases biológicas de la Terapéutica. Mach Graw-Hill.
- Locani, O. A., Perkins de Piacentino, A. M., Ginesin, L. M., & Mangas, L. (s.f.). Matrices Alternativas: Tejido Adiposo, una Matriz de Elección. Cuadernos de Medicina Forense.
- Manzanera, L. R. (2012). Criminología. México: Porrúa.
- Marti, A., Berraondo, B., & Martínez JA, L. (1999). Leptin: physiological actions. J Physiol Biochem .
- National Institute of Drug Abuse. (Septiembre de 2015). Obtenido de <https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/como-produce-sus-efectos-la-marihuana>
- Rosell Puig, W., Dovale Borjas, C., & Álvarez Torres, I. (s.f.). Morfología Humana. Ciencias Médicas.