

ESPECIALIDAD EN MEDICINA LEGAL

Directora de Carrera: Prof. Dra. Alicia Beatriz Vermé

TRABAJO FINAL INTEGRADOR:

Estudio sobre la detección de xenobióticos en humor vítreo en el campo de la medicina forense.

ALUMNO:

Dra. Sonia Susana Facal

TUTOR DISCIPLINAR:

Dra. Miriam Matoso

TUTOR METODOLÓGICO:

Lic. Alejandra Barotto

Año de Cohorte:


2017

Sede:

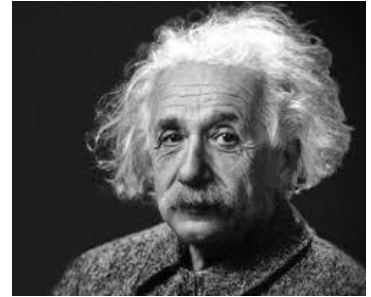
Buenos Aires



Sede Buenos Aires
Av. Las Heras 1907
Tel./Fax: (011) 4800 0200
 (011) 1565193479

Sede La Rioja
Benjamin Matienzo 3177
Tel./Fax: (0380) 4422090 / 4438698
 (0380) 154811437

Sede Santo Tome
Centeno 710
Tel./Fax: (03756) 421622
 (03756) 15401364



“Ninguna cantidad de experimentación puede probar definitivamente que tengo razón; pero un solo experimento puede probar que estoy equivocado.”

Albert Einstein

Agradecimientos.

En primer lugar quiero agradecer muy especialmente a la Dra. Mirian Matoso quien de manera totalmente desinteresada acepto ser mi tutora brindándome su apoyo y conocimiento para iluminar el desarrollo de este Trabajo Final Integrador.

No quiero dejar de agradecer al maravilloso grupo de compañeros de cursada, con quienes pudimos conformar un heterogéneo equipo de apoyo constante. Sin ellos hubiese sido muy difícil poder completar esta carrera de posgrado. La colaboración tanto académica como humana de cada uno de ellos ha sido invaluable para mí.

Finalmente, y no por esto menos importante, el especial agradecimiento a mi familia quienes creyeron que esta aventura podía ser posible, a Leandro que me alentó en todo momento a no bajar los brazos y a mi hija quien me acompañó desde mi vientre ni bien comenzó la cursada. En especial a ella y a la enseñanza de que todo esfuerzo tiene su dulce recompensa es que dedico este trabajo.

Calificación

JURADO 1:

JURADO 2:

JURADO 3:

NOTA FINAL:

Índice

	Página
Agradecimientos	2
Hoja de calificación	3
Índice	4
I.Introducción	5
II.Objetivos: General y Especifico	6
III.Marco conceptual	
Que es el Humor Vítreo	7
Toma de muestra de Humor Vítreo	12
Xenobióticos	13
Análisis de la muestra de Humor Vítreo	17
Aplicación en medicina forense	21
Consideraciones finales	23
IV.Metodología	25
Bibliografía	26

ESTUDIO SOBRE LA DETECCIÓN DE XENOBIOTICOS EN HUMOR VÍTREO EN EL CAMPO DE LA MEDICINA FORENSE.

I. Introducción

Los materiales biológicos más frecuentemente usados en toxicología forense son sangre y orina pero existen casos en los cuales éstas no se encuentran disponibles o no son de buena calidad. Generalmente, solo se utiliza del Humor Vitreo (HV) para evaluar las concentraciones de etil alcohol endógeno, producto del proceso putrefactivo (Markowska, Szopa, Zawadzki y Piekoszewski, 2017).

En 1969, Felby y Olsen publicaron uno de los primeros reportes de análisis postmortem de drogas en HV. En su estudio, evaluaban la comparación de la concentración de barbitúricos entre una muestra de HV y otra de sangre. Consideraron la técnica de análisis del HV más sencilla que la hemática, especialmente en casos de putrefacción.

El HV es una matriz de glicosaminoglicanos hiperhidratada que ocupa la cavidad vítrea. Por su ubicación anatómica y sus características bioquímicas se trata de un medio estéril contenido dentro del globo ocular con baja redistribución y por estar aislado, se preserva por más tiempo de los fenómenos putrefactivos. Estas condiciones lo convierten además en una muestra factible a la hora de realizar exámenes de toxicología forense (Bazmi, Behnoush, Akhgari y Bahmanabadi, 2016). El HV es una matriz útil en casos de muertes dudosas ya que posibilita realizar diferentes tests a fin de esclarecer las causas del deceso. Permite realizar determinaciones de drogas, intervalo post mortem, diabetes, deshidratación, desnutrición e insuficiencia renal entre otros (Montefusco-Pereira y de Matos Alves Pinto, 2016).

Para la utilización del HV como muestra toxicológica es necesario contar con personal capacitado y normativas para su procesamiento y lectura de resultados. Actualmente es una muestra que se encuentra subvalorada y que no se realiza de rutina. Por sus características, puede aportar muchos datos a la toxicología forense.

Pregunta Problema: ¿Cuáles son los alcances de la muestra de humor vítreo en la detección de xenobióticos en la Medicina Forense?

Palabras Claves: xenobióticos - humor vítreo - medicina forense – toxicología forense

II. Objetivos

Objetivo General:

- Evaluar la aplicación de la muestra del humor vítreo como muestra toxicológica en la Medicina Forense

Objetivos específicos:

- Identificar los xenobióticos que pueden encontrarse en humor vítreo
- Identificar el uso de las prácticas de análisis de la muestra del humor vítreo
- Analizar los métodos de análisis de xenobióticos en humor vítreo

III. Marco conceptual

QUE ES EL HUMOR VITREO?

El HV es un gel acuoso de características viscoelásticas situado en la cavidad posterior del ojo llamada cámara vítrea. Se encuentra contenido en el saco hialoideo, ocupa 4/5 partes del globo ocular y limita con la retina, cuerpo ciliar y el cristalino; se trata de un fluido limpio compuesto en un 90% a 99% por agua y por glicosaminoglicanos, en su mayoría colágeno y ácido hialurónico.

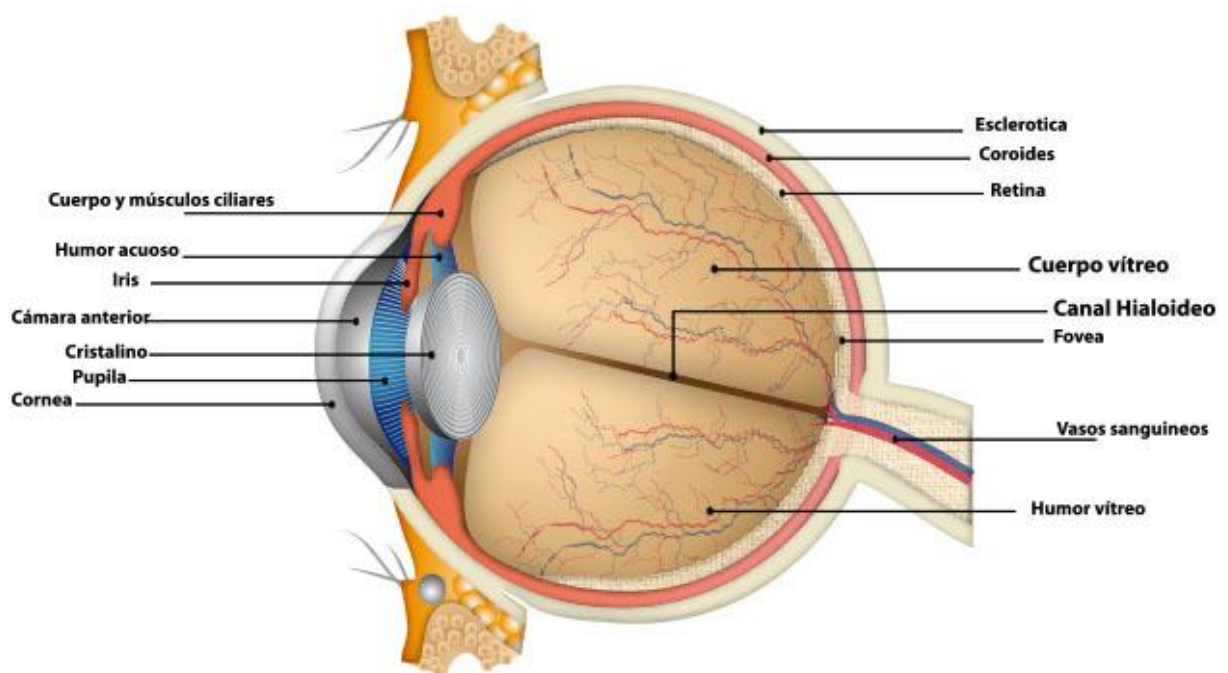


Fig. 1 Anatomía de ojo humano

Embriología:

En su formación embrionaria, se pueden reconocer tres estadios:

- Vítreo primario o hialoideo: Cuando la copa óptica en su crecimiento se aleja de la vesícula cristaliniada, entre ambas existe muy precozmente una continuidad, pues ese espacio está relleno de material PAS +, apareciendo como "puentes protoplásmicos" entre las dos capas epiteliales: es el vítreo primario. En estadio de 10 mm el mesodermo penetra por la fisura embrionaria e invade el espacio vítreo. Sus células junto a las ectodérmicas forman un sincitio. Posteriormente capilares que provienen de la arteria Hialoidea van extendiéndose

por la cara posterior de la vesícula cristalina y la "aislan" relativamente del vítreo 1º. Así el Vítreo 1º está formado por cristalino, retina y mesodermo. Las fibras tienen por un lado disposición paralela a la retina, aunque en el ecuador del cristalino adquieren la forma de abanico (situándose entre el cristalino y el labio anterior de la cúpula óptica). Conforme aumenta la cúpula óptica, sólo quedan estas últimas y por otro, fibras con disposición perpendicular a la retina (entre la membrana limitante interna y el cristalino) o Fibras de Tarnatola.

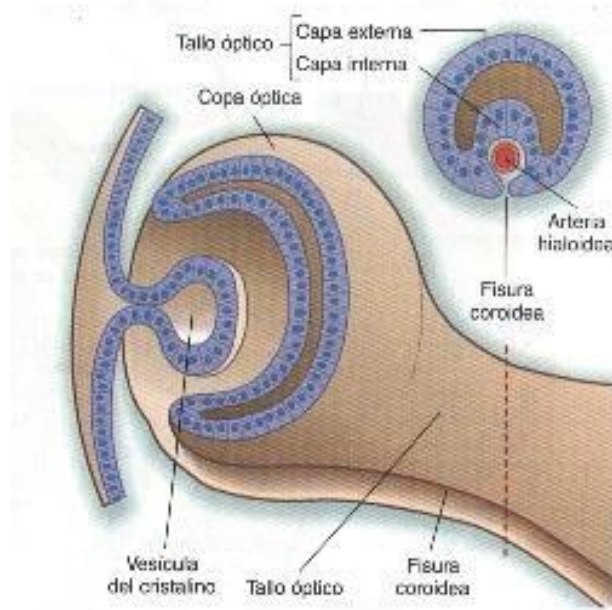


Fig. 2 Vesícula óptica.

- Vítreo secundario o definitivo: Comienza a desarrollarse finalizando hacia la 6ta. semana. Inicialmente es una zona de vítreo, en contacto con la superficie interna de la retina, más delgada pero más densa que el vítreo 1º y formado por fibrillas onduladas paralelas a la retina. Estas fibras son más gruesas en la región anterior (en el anillo de la cúpula óptica) y forman a ese nivel una zona mejor definida que el resto, que se irradia hacia atrás y adentro (Fascículo Ístmico de Druault). Están íntimamente unidas a la membrana limitante interna (Base Vítreo de Salzman) y de ellas se origina la mayor parte del Vítreo 2º. También se unen firmemente alrededor de la superficie posterior de la cápsula cristalina (diámetro aproximado 4-9 mm: Ligamento Hialoideo-Capsular de Wieger) y a la región del disco óptico. El vítreo 2º en su crecimiento, sumado la atrofia del sistema hialoideo y el crecimiento ocular, hacen que el vítreo 1º quede relegado, junto con el remanente del sistema hialoideo, a una zona estrecha en el centro de la cavidad vítreo (su línea de demarcación es vista en histología como una zona de condensación fibrilar: Membrana

Limitante Intravítrea) con forma de cono (su vértice hacia el disco óptico y la base hacia el cristalino). Eventualmente su unión al disco deja un resto o expansión posterior: Área de Mortegiani. Su expansión anterior deja un espacio ópticamente vacío, de curso similar al canal de Cloquet. En el 3 mes el vítreo 2º está desarrollado.

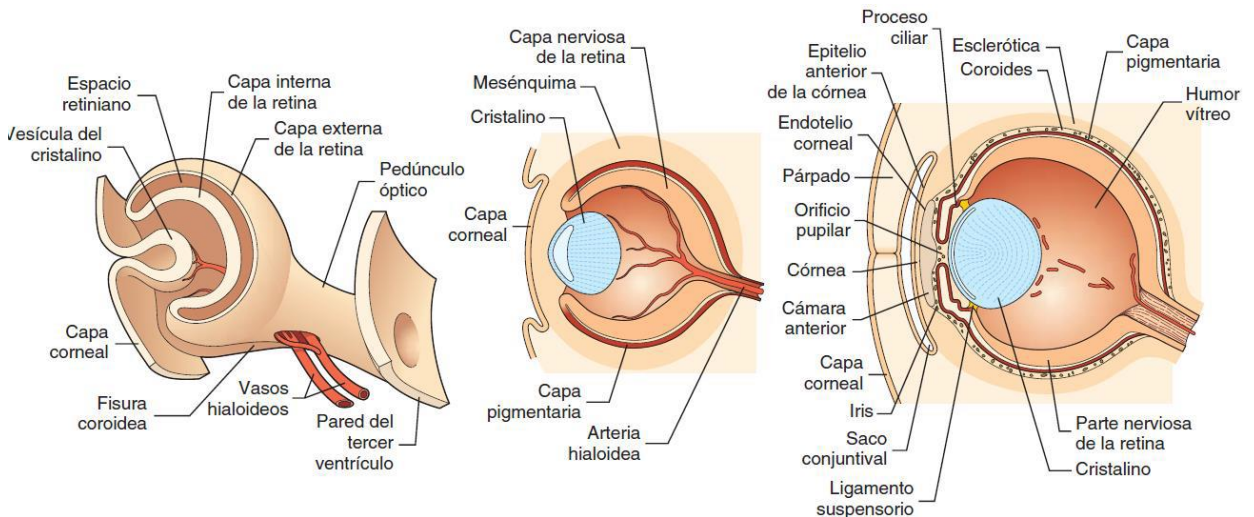


Fig. 3 Evolución embrionaria de las estructuras oculares

- Vítreo terciario o Zónula. Aparece como una condensación del triángulo de Vítreo 2º situado entre el Cuerpo Ciliar y el Ecuador del Cristalino. Aparecen fibrillas (de las que se formará la Zónula) entre los procesos ciliares y la Cápsula del Cristalino. Posteriormente se reabsorbe la zona de Vítreo 2º entre ambas.

Anatomía:

Anatómicamente es un hidrogel con un peso total de 3,9 g y un volumen aproximado de 3,9 ml y aunque aparentemente es una estructura homogénea, los estudios bioquímicos y biomicroscópicos demuestran que el vítreo es tremendamente complejo, con abundantes macromoléculas que están distribuidas heterogéneamente y con muy escasas células. Sus funciones fundamentales son permitir la transmisión de luz a la retina, mantener la forma del ojo y permitir que la retina se encuentre uniforme para poder recibir imágenes.

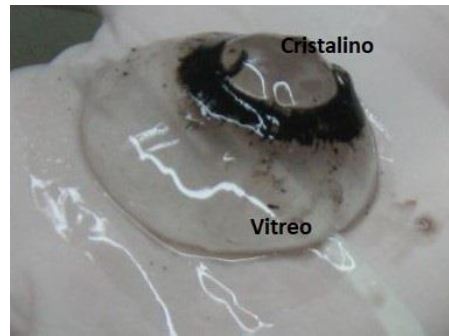


Fig. 4 Cuerpo vítreo adherido a cristalino

En cuanto a la ultraestructura del HV, las glicoproteínas y los proteoglicanos que lo componen se asocian a las fibras de colágeno tipo II, manteniendo así la estructura del tejido. También se encuentra pequeñas cantidades de ácido sálico, ácido ascórbico y láctico, glucosa, algunos lípidos, componentes inorgánicos como potasio, cloro, sodio; albúminas, globulinas y aminoácidos. Es una sustancia coloidal con un medio alcalino (pH 7.5). No se renueva desde su formación durante la etapa embrionaria. En comparación, contiene menor concentración proteínas que la orina.

El HV es una estructura avascular, debido a esto, el pasaje de sustancias al interior del globo ocular se realiza mediante difusión simple (Klaassen y Watkins, 2014), viéndose favorecidas las sustancias de bajo peso molecular. Deben atravesar la barrera hemato-retiniana (BRB). Se trata de una barrera selectiva, como la barrera hemato-encefálica. Asegura la entrada requerida para la función retiniana y restringe la de posibles patógenos (por ejemplo, enzimas, anafilatoxinas). En realidad está compuesta por dos barreras. La primera, que comprende el epitelio pigmentario de la retina (EPR) que separa la retina de la coroides, es el BRB exterior. Las células EPR tienen la particularidad de estar ligados por uniones intercelulares (*zonula adherens* y *zonula occludens*), forzando el tránsito intracelular de compuestos. La segunda, que constituye el epitelio no fenestrado de los vasos sanguíneos de la retina, es la BRB interior. Las dos barreras no son sucesivas; más bien están asociadas con las dos vías de penetración de la retina: capilares coroideos para el BRB externo y los vasos retinales para el interior de BRB (Jordan y Ruiz-Moreno, 2013). La selectividad puede verse afectada por diversas patologías, las más frecuentes de las cuales son la retinopatía diabética y la degeneración macular relacionada con la edad.

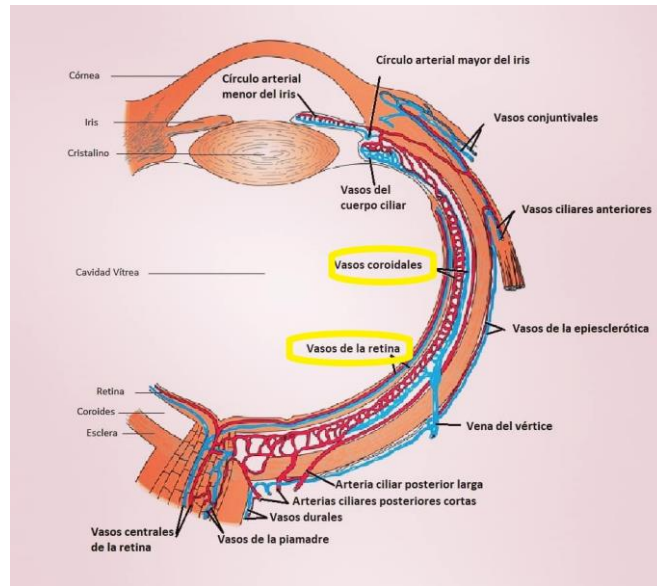


Fig. 5 Irrigación del ojo

Al encontrarse contenido dentro de la cavidad ocular, el HV permanece aislado en un compartimiento relativamente resguardado de la contaminación externa y la invasión de microorganismos. Adicionalmente, la ubicación anatómica dentro de la órbita ósea también lo protege de los daños producidos por traumas externos. Esto lo preserva en un ambiente estéril, en consecuencia se trata de un medio relativamente estable para hallazgo de drogas y metabolitos durante el periodo post mortem.

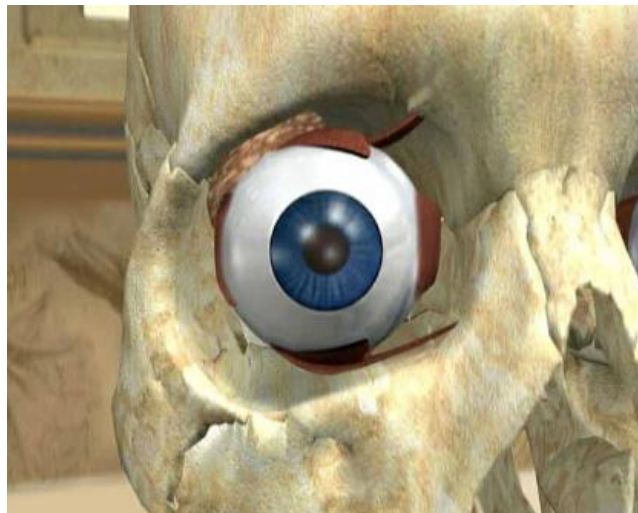


Fig. 6 Órbita ósea

TOMA DE MUESTRA DE HV

Habitualmente cuando no se puede establecer la causa de la muerte con el necesario grado de certidumbre, la toma de muestras durante la autopsia incluye muestras adicionales y fluidos para estudios metabólicos y toxicológicos. Éstas incluyen sangre, humor vítreo, líquido cefalorraquídeo, bilis, pelo y demás tejidos importantes. (Nuñez de Arco, J. 2005)

El HV se puede recoger fácilmente por aspiración directa durante la autopsia. Dadas sus características, el HV es una matriz post mortem alternativa que puede utilizarse para la detección de diversas drogas de abuso, entre ellas la cocaína (Stephens, Jentzen y Karch, 2004). Se obtiene mediante la punción de la cámara vítrea y se extrae una cantidad entre 1 a 2 ml por cada globo ocular.

Durante la autopsia, el humor vítreo debe aspirarse con cuidado para la obtención de resultados fiables. Para ello, una aguja hipodérmica de 30G montada en una jeringa de 5 ml. se inserta en la esclera, luego de haber sido retirado el párpado, perpendicular a la misma, desde el limbo y hacia *pars-plana* a no menos de 4 mm del mismo para evitar contactar el cristalino si el ojo fuese fáquico. La aguja se debe insertar en el centro del globo para evitar la aspiración de material cerca de la retina, que presenta una composición química muy diferente de la del humor vítreo debido a los fragmentos de retina desplazada que podrían entrar en la jeringa. El fluido debe aspirarse lentamente y con suavidad; debe recolectarse de ambos ojos, puesto que con frecuencia su composición química difiere. Después de la extracción del humor vítreo, el globo puede rellenarse con agua o solución salina para mejorar la apariencia de los globos oculares. El almacenamiento de muestras de humor vítreo destinadas a la detección de alcohol y otras drogas requiere de la adición de fluoruro de potasio para inhibir la formación postmortem de etanol (Saukko, P. y Knight, B. 2004)



Fig. 7a Área de punción vítrea

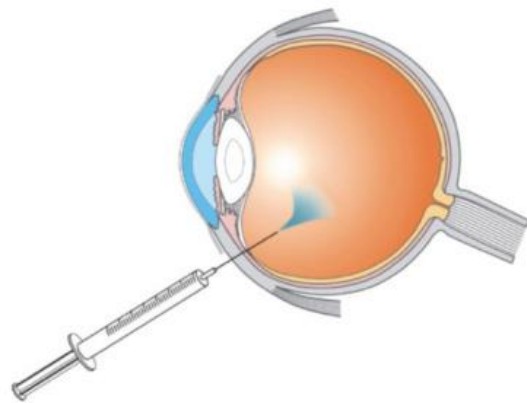


Fig. 7b Punción de la cámara vítrea

XENOBIOTICOS

En HV se pueden detectar sustancias tóxicas que han ingresado por todas las vías como inhalatoria, digestiva, cutánea o parenteral. Los tóxicos llegan al ojo a través del torrente sanguíneo y dado que el HV es una estructura avascular, tales sustancias se distribuyen a través de la sangre a la úvea y los vasos retinales ingresando al HV por difusión simple. Para poder difundir debe tratarse de moléculas pequeñas y no unidas a proteínas. Consecuencia de lo cual, los hallazgos intravítreos corresponden a la fracción libre de los tóxicos circulantes en sangre y puede realizarse una relación directa entre ambas muestras (Mariño-Gaviria, 2017). El mayor o menor grado de liposolubilidad de los tóxicos tendrá relación directa con la cantidad que puede ser hallada en HV.

Al no estar expuesto a otros fluidos biológicos se pueden realizar testeos toxicológicos no contaminados que podrían proveer información de la concentración de ciertas sustancias biológicamente activas en sangre con al menos un intervalo de 1 a 2 horas previas a la muerte (Paranitharan y Pollanen, 2011).

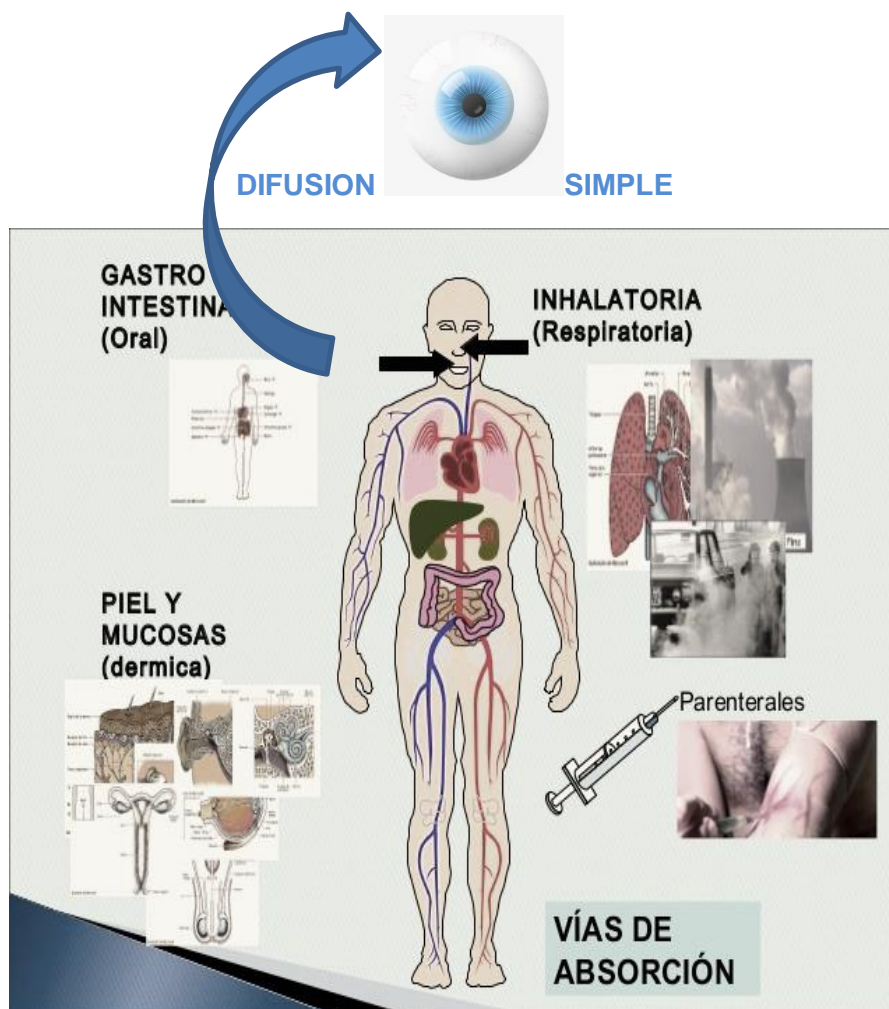


Fig. 8 Vías de absorción de tóxicos y pasaje a vítreo

Entre las sustancias detectables en HV se pueden destacar distintos xenobióticos (Rees, 2011) (Mariño-Gaviria, 2017) como fármacos entre los que se encuentran

- Benzodiacepina
- Antidepresivos Tricíclicos
- Barbitúricos
- Oxidodona
- Digoxina
- Indometacina
- Morfina
- Codeína
- Insulina
- Meprobemato
- Fenitoína, entre otros.

Además pueden hallarse drogas de abuso como

- Alcohol
- Cocaína
- Heroína
- Canabinoides
- Fenilciclohexilpiperidina (PCP)
- 2,5-dimetoxi-4-cloroanfetamina –DOC-

También pueden aislarse marcadores bioquímicos y electrolitos como

- Glucosa
- Urea
- Potasio
- Nitrógeno
- Creatinina
- Sodio
- Cloro
- Magnesio
- Bilirrubina
- ácido láctico
- ácido β -HBA.

En un estudio realizado por Pelander, A. et al. (Pelander, Ristimaa y Ojanpera 2010), se colectaron muestras vítreas en autopsias médico-legales, mismas que se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución acoplada con espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo. Se determinaron valores de corte o límites de sensibilidad para 70 medicamentos en muestras de humor vítreo. El punto de partida para las concentraciones fueron los puntos de corte previamente determinados para muestras de orina. La Tabla I muestra el valor de corte en humor vítreo para cada una de las 70 drogas analizadas.

Compuesto	Valor de corte (mg/L)	Compuesto	Valor de corte (mg/L)
Acebutolol	0,02	Metadona	0,01
Amitriptilina	0,02	Metanfetamina	0,02
Anlodipina	0,5	Metoprolol	0,01
Anfetamina	0,05	Mianserina	0,015
Atenolol	0,04	Midazolam	0,025
Benzoilecgonina	0,25	Mirtazapina	0,01
Betaxolol	0,01	Moclobemida	0,015
Bisoprolol	0,015	6AM	0,04
Buprenorfina	0,1	Morfina	0,025
Carbamazepina	0,009	Nortriptilina	0,03
Carvedilol	0,09	Olanzapina	0,05
Celiprolol	0,025	Orfenadrina	0,01
Cloroquina	0,1	Oxprenolol	0,01
Citalopram	0,013	Oxicodona	0,025
Clomipramina	0,05	Paroxetina	0,07
Clonidina	0,015	Fenazona	0,0075
Clozapina	0,035	Fenciclidina	0,015
Cocaína	0,01	Fenitoína	0,25
Codeína	0,015	Propranolol	0,008
Dextropropoxifeno	0,02	Quinina	0,03
Ranitidina	0,01	Diazepam	0,03
Diltiazem	0,03	Risperidona	0,05
Dixirazina	0,2	Selegilina	0,4
Doxepina	0,015	Sildenafil	0,35

Etilmorfina	0,02	Sotalol	0,6
Fentanilo	0,02	Sulpirida	0,015
Flunitrazepam	0,02	Timolol	0,015
Fluoxetina	0,05	Tizanidina	0,01
Fluvoxamina	0,05	Tramadol	0,008
Glipizida	0,5	Trimipramina	0,02
Indometacina	0,8	Venlafaxina	0,007
Cetoprofeno	0,04	Verapamilo	0,08
LSD	0,025	Warfarina	0,02
MDMA (Éxtasis)	0,03	Zolpidem	0,01
Melperona	0,01	Zopiclona	0,07

Tabla I. Valores de corte de 70 drogas en humor vítreo (Pelander, Ristimaa y Ojanpera 2010).

ANALISIS DE LA MUESTRA DE HV

Cuando se obtiene la muestra es importante su adecuado manejo para obtener los resultados deseados. De todos modos no hay que olvidar que los procesos metabólicos naturales son inevitables debido a las interacciones moleculares, la edad avanzada e incluso la densidad del humor vítreo que, por ejemplo, tiene características diferentes en los recién nacidos pudiendo generar variaciones, sobretodo en la medición de marcadores bioquímicos y electrolitos.

En un estudio de 51 muestras pareadas de HV y sangre femoral Harper et al., encontraron que las muestras de VH estaban menos expuestas a contaminación bacteriana, lo cual es una ventaja en términos de detección de xenobióticos y estabilidad de la misma durante el almacenamiento. Para potenciar esta ventaja, los autores recomiendan realizar el muestreo bajo condiciones asépticas, tanto para jeringa y envase, a fin de evitar la contaminación bacteriana.

Se sugiere el análisis inmediato de las muestras, pero de no ser así, las muestras deben ser almacenadas al menos a 4^o C. Preferentemente deben ser almacenadas cada ojo por separado, en tubos de 5 ml para limitar el volumen de la superficie expuesta a fin de evitar la evaporación de sustancias volátiles como el etanol.

Si bien generalmente el vítreo es considerado una muestra que no se ve afectada por los fenómenos enzimáticos y bacterianos putrefactivos postmortem, se puede usar estabilizadores como NaF o KF para bloquear cualquier actividad enzimática que pueda generar o degradar ciertos xenobióticos. Aunque existen estudios sobre la estabilidad de la misma sin conservantes. Es por esto que basado en los datos experimentales se recomienda para el muestreo de VH que se almacene el vítreo de cada globo ocular por separado, sin mezclarlo. Una muestra puede estar destinada al examen toxicológico, almacenándola con un estabilizador (1.5% NaF o KF) para prevenir la neoformación de etanol y la degradación de xenobióticos como las benzodiazepinas, 6-MAM o cocaína. La otra muestra, sin estabilizador, sirve para el análisis bioquímico. Ambas muestras deben almacenarse a -20°C (Bevalot y col. 2016)

Dada la viscosidad del HV, hay autores que recomiendan la centrifugación, combinada con agitación, como el mejor método y el más sencillo para preparar las muestras congeladas destinadas al análisis (Montefusco-Pereira y de Matos Alves Pinto 2016) aunque también puede prepararse la muestra con otras técnicas licuefactivas incluyendo la hidrólisis enzimática con hyaluronidasa, calentamiento, microfiltrado y dilución de la muestra.



Fig. 9 Centrífuga de laboratorio

Existen diferentes técnicas para el análisis de la muestra como la cromatografía de gases, la cromatografía líquida de alta resolución, la espectrometría de masas, la electroforesis capilar y el análisis inmunoenzimático (Chris, Chronister y Ansley, 2008). Es necesario contar con profesionales entrenados en el procesamiento, análisis e interpretación de los resultados para poder aprovechar toda la información útil.

Las técnicas de procesamiento de la muestra se pueden dividir en dos grupos:

- Presuntivas:
 - Inmunoensayos enzimáticos (EIA)
 - Inmunoensayo por fluorescencia polarizada (FPIA)
 - Radioinmunoanálisis (RIA)
 - Cromatografía de capa fina (CCF)

- De confirmación:
 - Cromatografía de líquidos - espectrometría de masas (CL - EM)
 - Cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG - EM)
 - Electroforesis capilar – espectrometría de masas (EC - EM)

Los métodos presuntivos sirven para un análisis inicial de screening, que permite identificar muestras negativas. Son selectivos a familias de drogas. Se trata de métodos sensibles, rápidos y baratos. Un resultado negativo no genera dudas pero un resultado positivo necesita confirmarse.

Las muestras para inmunoensayo de HV requieren centrifugación y dilución.



Fig. 10 Equipo VIVA Twin para pruebas presuntivas por inmunoensayo

Las pruebas confirmativas son un segundo análisis, empleando generalmente una técnica con un principio químico diferente a la prueba presuntiva como la técnica cromatográfica acoplada a una espectrometría (CG/EM, CL/EM). Permite identificar sustancias con alta sensibilidad. Generalmente da información cuantitativa y es más confiable, con validez legal.



Fig. 11 Cromatografía de líquidos de alta resolución

Los factores que determinan la detectabilidad de las drogas son:

- Tipo de droga
- Dosis consumida
- Frecuencia de uso
- Diferencias individuales en metabolismo
- Momento de recolección vs. consumo
- Sensibilidad del método

Existen limitaciones a la hora del análisis de drogas y estos son:

- Drogas detectables pero debajo del nivel de corte (Negativo)
- No pueden indicar la cantidad de droga consumida
- No puede indicar cuando se consumió
- No puede indicar la fuente de la droga
- Muchos inmunoensayos no detectan algunos opiáceos sintéticos o semisintéticos
- No existen inmunoensayos para muchas drogas
- Algunas drogas requieren de inmunoensayos específicos

APLICACIÓN EN MEDICINA FORENSE

La investigación del HV tiene una importancia considerable debido a que es una muestra viable aun cuando la sangre u orina post mortem no están disponibles o están limitadas en términos de calidad o cantidad por ejemplo, después de un shock hemorrágico, quemaduras, embalsamamiento o procesos de descomposición. (Margalho, Franco y Corte-Real, 2011) Del mismo modo, estas muestras son inexistentes en cuerpos con alto grado de putrefacción o momificados. El HV puede ser una muestra útil y en algunos casos es la mejor o la única muestra disponible para el análisis toxicológico forense (Arora, Velpandian y Saxena, 2016)

Gracias a la barrera hemato-ocular que está formada por los capilares del epitelio de la retina, el iris, el epitelio ciliar y el epitelio pigmentario y controla el paso de nutrientes de la coroides hacia la retina neurosensorial, manteniendo concentraciones apropiadas para la fisiología neural, el HV se mantiene estéril y viable para su análisis por mucho más tiempo que otras muestras.

El HV posee un amplio abanico de datos a analizar. El más difundido es la averiguación de la data de muerte o cronotanodiagnóstico donde se produce una pérdida de proteínas y sobretodo cambios bioquímicos. Entre otros valores, uno de los más importantes es la concentración de potasio, pues hay una relación directa entre los valores de sodio y potasio. En las primeras horas posteriores al fallecimiento sube la cantidad de potasio y baja la de sodio, guardando una relación lineal durante las primeras 80 horas y en ocasiones hasta las 100 horas posteriores.

También se pueden determinar estados patológicos previos o relacionados con la muerte que ayudan a esclarecer hallazgos en la autopsia. El más frecuente es la diabetes ya que los niveles intravítreos de glucosa se mantienen estables por mucho más tiempo que en muestras hemáticas. También puede detectarse deshidratación, insuficiencia renal y vómitos, entre otros.

Menos difundido es el análisis de la muestra de HV para pesquisa de drogas, en la búsqueda de xenobióticos para esclarecer la causa de un deceso. La toxicología forense permite determinar si el cuerpo contiene algún tipo de sustancias toxicas como estupefacientes, antidepresivos, anestésicos generales, LSD, entre otros. Esto se realiza con el objeto de ayudar a la investigación colaborando a esclarecer la causa de una muerte.

Las desventajas de esta muestra se relacionan con el pequeño volumen que se puede obtener, que promedia los 2 ml por cada globo ocular limitando la cantidad de estudios que

se pueden realizar. Algunos autores plantean cierto grado de difusión post mortem de algunas drogas desde el cerebro hacia el HV (García, Denis E, Melo, Denis P, Aguirre y Hermida, 2015). La utilización de muestras tomadas de globos oculares con patologías o cirugías que hayan podido comprometer el vítreo como en las cirugías vítreo retinales, la retinopatía diabética avanzada, la maculopatía húmeda, neoplasias como el melanoma con compromiso de la membrana de Bruch o traumatismos perforantes entre otros, debería replantearse ya que en estos casos la barrera hemato-ocular se encontraría alterada y los hallazgos ser variables.

Aún existen controversias sobre el análisis de los resultados hallados de los xenobióticos en muestras de HV, dando mayor dificultad de interpretación que los resultados de muestras hemáticas o de orina, siempre y cuando éstas se encuentren disponibles.

CONSIDERACIONES FINALES

Las pesquisas toxicológicas son de suma importancia en toxicología forense ya que aclaran las causas de muerte. El estudio de los xenobióticos presentes en el HV puede ayudar a esclarecer si están relacionados con sobredosis, adicciones, accidentes, patologías sistémicas o lesiones.

El HV, como matriz de análisis, posee ventajas que hacen del mismo una muestra a tener en cuenta ya que es de fácil obtención y con la pericia adecuada puede obtenerse una muestra limpia que aun a concentraciones bajas permite detectar metabolitos específicos

Dado que la mayoría de los xenobióticos presentes en el torrente sanguíneo se detectan en VH después de haber cruzado la barrera selectiva hemato-ocular, es una matriz alternativa útil para toxicología forense. El análisis del HV ofrece ventajas particulares sobre otras matrices biológicas: es menos propenso a la redistribución postmortem, es de fácil recolección, al ser acelular tiene relativamente pocos compuestos que puedan interferir en el proceso analítico y posee una alta estabilidad en el tiempo de la muestra después de la muerte. Puede obtenerse HV aun en cadáveres con alto grado de putrefacción donde otro tipo de muestras ya no se encuentra al alcance del análisis forense. Algunos autores postulan que puede determinarse una gran cantidad de sustancias en muestras tomadas incluso 4 días después de haber fallecido el individuo.

Para varios compuestos como 6-MAM, PCP, cocaína, entre otros, la ventana de detección es mayor que en la sangre. Este interés cualitativo podría ser mejorado con técnicas que logren umbrales de detección más bajos que aquellos utilizados en mayoría de las otras matrices forenses.

La rutina establecida en la Morgue Judicial de la Nación es la toma de muestra de HV en ambos ojos y el análisis de electrolitos para establecer el intervalo postmortem. El departamento de Toxicología guarda la muestra sobrante y, dependiendo de los resultados toxicológicos de las muestras de sangre, orina y LCR, es posible solicitar el estudio toxicológico de HV. En nuestro país es de normativa el empleo del HV con fines de cronotanodiagnóstico. En lo respectivo al examen toxicológico se utiliza con muy buena correlación sangre-HV para la detección de etanol. Actualmente el uso para detección de drogas de abuso no se encuentra tan difundido y no hay criterios uniformes para su indicación.

Aún queda mucho trabajo por hacer para mejorar las técnicas de interpretación de los resultados obtenidos con esta matriz y para optimizar el uso del relativamente escaso volumen de material. Será trabajo de futuras investigaciones el resolver estos conflictos.

“El investigador sufre las decepciones, los largos meses pasados en una dirección equivocada, los fracasos. Pero los fracasos son también útiles, porque, bien analizados, pueden conducir al éxito. Y para el investigador no existe alegría comparable a la de un descubrimiento, por pequeño que sea” -SIR ALEXANDER FLEMING-

IV. Metodología

a. Tipo de estudio: Revisión bibliográfica de tipo narrativa.

b. Ámbito de estudio: Literatura científica publicada preferentemente en los últimos 15 años.

Se ha realizado una revisión sistemática de publicaciones científicas referentes a medicina forense y toxicología. También se han consultado revisiones sistemáticas y estudios científicos sobre el tema a tratar.

c. Fuentes e instrumento de recolección de datos: Se consultaron las publicaciones indexadas en Pubmed y la base de publicaciones del Consejo Argentino de Oftalmología.

d. Procesamiento y Análisis de la información: Windows Word 2010.

V. Bibliografía

Arora, B., Velpandian, T. y Saxena, R. (2016). Development and validation of an ESI-LC-MS/MS method for simultaneous identification and quantification of 24 analytes of forensic relevance in vitreous humour, whole blood and plasma. *Drug Test Anal.* 8(1):86-97

Bazmi, E., Behnoush, B., Akhgari, M. y Bahmanabadi, L. (2016) Quantitative analysis of benzodiazepines in vitreous humor by high-performance liquid chromatography. *SAGE Open Medicine Volume 4: 1–7*

Bevalot, F., Cartiser, N., Bottinelli, Ch., Fanton, L. y Guitton, J. (2016) Vitreous humor analysis for detection of xenobiotics in forensic toxicology: a review. *Forensic Toxicol*, 34: 12-40.

Chris, W., Chronister, E. y Ansley L. (2008). Rapid Detection of Opioids in Vitreous Humor by Enzyme Immunoassay. *J Anal Toxicol*, 32 (8): 601-604

García, H., Denis, E., Melo, G., Denis, P., Aguirre, A. y Hermida, A. (2015) Determinación toxicológica de cocaína en humor vítreo. *Revista Mexicana de Medicina forense y ciencias de la salud: 62-75*

Harper, DR (1989) A comparative study of the microbiological contamination of postmortem blood and vitreous humour samples taken for ethanol determination. *Forensic Sci Int* 43:37–44.

Jordan, J., Ruiz-Moreno, JM. (2013) Advances in the understanding of retinal drug disposition and the role of blood-ocular barrier transporters. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 9:1181–1192

Klaassen, CD. y Watkins JB. (2014) Podstawy toksykologii. *Medpharm*.

Margalho, C., Franco, C. y Corte-Real, F. (2011). Illicit drugs in alternative biological specimens: a case report. *J Forensic Leg Med*, 18(3): 132-5.

Mariño-Gaviria, D. (2017) Detección post mortem de una nueva sustancia psicoactiva DOC en humor vítreo. *Colombia Forense Vol. 4, Número 1: 7-14*

Markowska, J., Szopa, M., Zawadzki, M. y Piekoszewski, W. (2017). Vitreous humour – routine or alternative material for analysis in forensic medicine. *Archiwum Medycyny Sadowej i Kryminologii* 67 (3): 201–213

Montefusco-Pereira, C. y de Matos Alves Pinto, L. (2016). El humor vítreo como fluido biológico de importancia clínica en ciencias forenses. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 50 (1): 27-35

Núñez de Arco, J. (2005). La Autopsia. *Impresiones Tupac Katari*: 50.

Paranitharan, P. y Pollanen, MS. (2011) Utility of postmortem vitreous biochemistry. *Sri Lanka Journal of Forensic Medicine, Science & Law* 2011; 2.

Pelander, A. Ristimaa, J. y Ojanpera, I. Vitreous humor as an alternative matrix for comprehensive drug screening in postmortem toxicology by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 2010; 34 (6): 312-8.

Rees, KA. (2011) The Distribution of opiates, cocaine and their metabolites in skeletal muscle tissue and vitreous humour as an aid to post-mortem toxicological interpretation. *Doctoral dissertation. Bournemouth University* 42-50.

Saukko, P., Knight, B. (2004) Knight's Forensic Pathology. 3rd.ed. *Londres: Hodder Arnold*.

Stephens, BG., Jentzen, JM. y Karch, S. (2004). Criteria for the interpretation of cocaine levels in human biological samples and their relation to the cause of death. *Am J Forensic Med Pathol*, 25(1):1-10.