

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



PROPUESTA DE LA IMPLEMETACION DE UN METODO DE
IDENTIFICACION DE Δ -9-TETRAHIDROCANNABINOL (THC) EN CABELLO
HUMANO COMO MATRIZ BIOLOGICA PARA EL DIAGNOSTICO DEL
CONSUMO CRONICO DE MARIHUANA

INFORME FINAL DEL TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD CURSO DE
ESPECIALIZACION

PRESENTADO POR:

CLARISSA ALEJANDRA GALVEZ RIVAS
MAYRA CECILIA SANDOVAL PORTILLO

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

DICIEMBRE, 2022

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIO INTERINO

MSc. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL

MSC. ENA EDITH HERRERA SALAZAR

TRIBUNAL EVALUADOR

LICDA. LORENA MARGARITA RAMIREZ MERCADO

MSc. ELISEO ERNESTO AYALA MEJIA

TUTORA

MSc. NANCY ZULEYMA GONZALEZ SOSA

Agradecimientos

Agradezco a Dios primeramente por haberme permitido culminar mi carrera, por cuidarme de inicio a fin y guiarme en todo el proceso, ya que sin Él nada de esto fuera posible.

A mis padres por darme la oportunidad de estudiar esta carrera y contar con su apoyo desde el inicio. En especial a mi madre Ethel Rivas por estar conmigo y para mi en las buenas y en las malas, por siempre confiar en mi a pesar de las dificultades que pude llegar a tener en mis estudios, por siempre estar orgullosa de mi en todo lo que hiciera y por su amor incondicional hacia mí.

A mi hermano, Mau, por siempre estar en momentos en los que necesite de su ayuda, apoyo académico o simplemente de su compañía en la universidad él siempre estuvo ahí y por siempre motivarme a ser una mejor persona.

A mi abuela, Miriam, por siempre preocuparse por mi bienestar, por alegrarse y emocionarse por cada etapa en esta carrera.

A David Arteaga, mi novio, porque se ha convertido en un apoyo y felicidad enorme en mi vida, porque me ha animado a siempre seguir adelante y me hace ver que soy capaz de mucho.

A mis amigos/as que gracias a la carrera tuve la oportunidad de conocer, Graciela Rodríguez, Tatiana Caballero, Conny Guinea, Karla Cruz, Néstor Galán y Josué Grande, por su amistad y apoyo incondicional, por tantas risas, buenos momentos y muchos recuerdos bonitos durante toda esta etapa y que estoy segura que seguiremos creando recuerdos muchísimo tiempo más.

A mi familia y compañeros de trabajo por siempre motivarme y alegrarse por cada uno de los logros alcanzados a lo largo de esta etapa.

Clarissa Alejandra Gálvez Rivas

Agradecimientos

Primeramente, gracias a Dios porque sin su ayuda nada de esto hubiese sido posible, porque siempre me dio su provisión y de su sabiduría para poder culminar mi carrera.

A mis asesoras del Curso de Especialización, muchas gracias por su ayuda en este proceso, por compartir sus conocimientos y guiarnos a culminar esta linda carrera.

A mis padres, Alirio Sandoval y Lisette de Sandoval que siempre han sido el motor que impulsan mis sueños y mis esperanzas, gracias por todos los días confiar y creer en mí y en mis expectativas, gracias a mi madre por siempre estar preparada para acompañarme cada extendida y agotadora noche de estudio, en las que ella con una oración y un café aliviaba mi cansancio y eso era para mí como agua en el desierto, gracias a mi padre que ahora me acompaña desde el cielo por dejarme la mejor herencia, por siempre estar cuando lo necesite y hacer que nunca me faltara nada a lo largo de toda la carrera, por siempre desear y anhelar lo mejor para mí. Hoy que concluyo mis estudios les dedico a ustedes amados padres este logro como una meta conquistada. ¡Hasta el cielo papito!

A mi hermana, Sarai Sandoval por siempre estar para acompañarme cada noche de desvelo y que con una sonrisa y un tazón de café aliviabas mi fatiga, y me impulsabas a seguir adelante y me decías que lo podía lograr.

A mi hija, Enmita por hacer que los días fueran más ligeros y menos cansados con sus ocurrencias, por siempre motivarme a ser mejor cada día que aun sin saberlo fue y es mi motor para poder culminar esta carrera tan hermosa, gracias porque con un abrazo o un beso curas cualquier no puedo y lo conviertes en un sí puedo hacerlo.

A mi esposo, Jonathan muchas gracias por siempre creer en mí y en mis capacidades de poder lograr cualquier cosa aun asi sea dificil de conquistar gracias por apoyarme en todo y siempre estar ahí para ayudarme.

A mi abuela, Eva Maria, gracias infinitas que aun en la distancia siempre tuviste una palabra de ánimo y de aliento cuando sentía que mis fuerzas no podían más, bastaba una llamada tuya para poder seguir, gracias por siempre ayudarme en todos los aspectos.

A mi familia en general, por siempre ser esa ayuda que cuando la necesite estuvo ahí para brindarme su apoyo incondicional, por siempre animarme a seguir adelante, por sus oraciones y por sostenerme cuando sentía desmayar, infinitas gracias.

Mayra Cecilia Sandoval Portillo

INDICE GENERAL

	pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	11
Capítulo III	
3.0 Marco teórico	17
3.1 Aspectos generales	13
3.1.1 Concepto de drogas	13
3.1.2 Cannabinoides: Propiedades Químicas y aspectos metabólicos	14
3.1.3 Epidemiología del uso/abuso del cannabis	24
3.1.4 Efectos farmacológicos de los cannabinoides	30
3.2 Matrices biológicas clásicas y alternativas en Toxicología	31
3.3 El cabello como matriz biológica	33
3.3.1 Formación y estructura	37
3.3.2. Incorporación de las drogas y fármacos al cabello	40
3.3.3. Aplicaciones del análisis de cabello en el ámbito de la Toxicología Clínica y Forense	44
3.4 Protocolos generales de análisis	42
3.4.1. Recogida de la muestra y almacenamiento	42
3.4.2. Segmentación del mechón	43
3.4.3. Eliminación de la contaminación externa	44
3.4.4. Extracción de los analitos de la matriz	45
3.4.5. Análisis Instrumental	50

Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	52
4.1 Tipo de estudio	52
4.2 Investigación bibliográfica	52
4.3 Desarrollo del proyecto de investigación	52
Capítulo V	
5.0 Propuesta de práctica de laboratorio	55
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	65
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	67
Bibliografía	
Anexos	

RESUMEN

El uso de drogas de abuso como lo es la marihuana, nunca dejara de tener importancia debido al alto consumo en países latinoamericanos como es el caso de El Salvador, por lo tanto, en el presente documento se propone un método de análisis, basado en la investigación bibliográfica, para la identificación de Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC), cannabinoide que posee una alta potencia psicoactiva en el consumidor y está presente en la marihuana o científicamente conocida como *Cannabis sativa*. Incentivando de tal manera al Laboratorio de Química Forense y Toxicología en la implementación de una práctica innovadora, proveyendo información acerca de los equipos necesarios para la detección de drogas de abuso en matrices biológicas alternativas como lo es el cabello humano, por muchos factores que aportan una ventaja al utilizar dicha matriz.

Por sus características peculiares, el cabello proporciona información que no se puede obtener mediante el análisis de otras muestras biológicas, como el tiempo de consumo prolongado, siendo posible establecer un perfil cronológico de consumo, es decir, determinar si una persona es consumidora crónica o habitual de marihuana. Al ser una propuesta de método es necesaria la validación del mismo, previo a la implementación en el laboratorio, para poder obtener resultados confiables, evitando de esta manera falsos positivos en la determinación de THC en muestras de cabello.

El trabajo de investigación fue desarrollado en tres diferentes etapas basándose en los objetivos específicos planteados, en las cuales se realizó una investigación exhaustiva del tema para que de esta manera se pudiera delimitar la información utilizada para obtener como producto final el diseño de una práctica de laboratorio sobre la identificación de THC en cabello como matriz biológica mediante cromatógrafo de líquidos acoplado a espectrometría

de masas, como producto final del curso de especialización de Análisis Químico Aplicado a la Investigación Criminal. La investigación se realizó en un periodo de seis meses bajo modalidad a distancia, pretendiendo que sea de utilidad en un futuro en la asignatura de Química Forense y Toxicología, cursada por los estudiantes de quinto año de la Licenciatura en química y Farmacia en el Facultad del mismo nombre, de la Universidad de El Salvador.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0. INTRODUCCION

El consumo de drogas ha estado presente a lo largo de la historia de la humanidad, y continúa siendo un grave problema en la sociedad, por lo que el uso de matrices biológicas alternativas para realizar la detección de las mismas en el ámbito de la Toxicología y Forense se ha incrementado de forma significativa en los últimos años. Estas matrices complementan la información obtenida con el análisis de las matrices biológicas tradicionales (sangre y orina), además de que la toma de muestra es sencilla y menos invasiva.

La acumulación de las drogas en el cabello se da a través de la difusión pasiva desde la sangre, nutriendo la papila dérmica, y a través del sudor y otras secreciones que bañan el cabello, constituyendo una matriz biológica alternativa adecuada para la identificación de THC, es muy útil debido a su amplia ventana de detección, de meses o incluso años de consumos anteriores a la toma de muestra, determinando un historial de consumo habitual o crónico de marihuana como droga de abuso, lo que permite realizar el estudio retrospectivo y establecer el perfil cronológico del mismo. Sin embargo, se requieren métodos analíticos suficientemente sensibles para su análisis toxicológico, ya que las concentraciones encontradas en esta matriz biológica suelen ser bajas.

A partir de investigaciones anteriores relacionadas a la determinación de drogas de abuso en muestras biológicas alternativas como lo es el cabello bajo métodos similares al seleccionado, se pudo diseñar una propuesta del método idóneo a utilizar para la identificación de THC en muestras de cabello. Mediante dos tipos de estudio bibliográfico y documental, investigación que ha sido fundamentada en una exhaustiva investigación bibliográfica.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue diseñar una practica de laboratorio para la identificación de Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC), cannabinoide con mayor potencia psicoactiva presente en la marihuana, en muestra de cabello, mediante cromatógrafo de líquidos acoplado a espectrometría de masas, como producto final del Curso de Especialización de Análisis Químico Aplicado a la Investigación Criminal, con una duración de seis meses en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, bajo la modalidad a distancia.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Proponer la implementación de un método de identificación de Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC) en cabello humano como matriz biológica para el diagnóstico del consumo crónico de marihuana.

2.2. Objetivo específico

- 2.2.1. Buscar fuentes bibliográficas que contengan información relacionada con la identificación de Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC) en cabello humano para el diagnóstico de consumo de marihuana.
- 2.2.2. Seleccionar la información a utilizar mediante una lectura y depuración del material recopilado.
- 2.2.3. Diseñar una práctica de laboratorio para la identificación de THC en muestra de cabello, mediante cromatógrafo de líquidos acoplado a espectrometría de masas.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0. MARCO TEORICO

3.1 Aspectos generales

3.1.1 Concepto de drogas

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el nombre de droga a toda sustancia, terapéutica o no, que introducida en el cuerpo por cualquiera de los mecanismos clásicos (inhalación de vapores o humos, ingestión, fricciones, etc.) o nuevos (administración parenteral, endovenosa, etc.) es capaz de actuar sobre el sistema nervioso central del individuo hasta provocar en él una alteración física o intelectual. La experimentación de nuevas sensaciones o la modificación de su estado físico. Esa modificación condicionada por los efectos inmediatos (psicoactivos) o persistentes (crónicos), predispone a una repetición continua en el uso del producto. Su capacidad de crear dependencia física, o psíquica, en el consumidor es precisamente una de las características más importantes a la hora de definir una sustancia como droga. Pero la dependencia no viene determinada exclusivamente por esa interacción entre la sustancia y el sistema nervioso central que, si bien tiene efectos bioquímicos agudos, persistentes o crónicos a corto, medio o largo plazo, también intervienen aspectos como la estructura social donde se desenvuelve el consumidor, sus relaciones dentro de un grupo humano y la “agresividad” en los mecanismos del mercado del producto. Se entiende como dependencia al estado psíquico y a veces físico, debido a la integración entre un organismo vivo y una sustancia, que, se caracteriza por las modificaciones en el comportamiento, y por otras reacciones entre las que siempre se encuentra una pulsión a ingerir por distintas vías esta sustancia con el objeto de volver a experimentar sus efectos psíquicos y, en ocasiones, evitar la angustia de la privación.

La tolerancia es, por el contrario, un efecto eminente físico, caracterizado por la necesidad biológica de aumentar continuamente la cantidad necesaria para obtener el efecto deseado.²

La adicción supone un estado caracterizado por la necesidad física imprescindible de una adecuada cantidad de droga en el organismo para el mantenimiento de la normalidad del mismo, llegando la dependencia hasta tal punto que la ausencia de la droga provoca en el mismo una serie de trastornos mentales o físicos que forman lo que se denomina síndrome de abstinencia, cuyas características dependen de la droga que haya creado la adicción.

3.1.2. Cannabinoides: Propiedades Químicas y aspectos metabólicos

La planta *Cannabis sativa* es originaria de Asia y su uso para producir fibras y confeccionar diversos productos textiles, data del 4000 a.C., mientras que su registro de uso en la medicina tradicional data de 2700 a.C. De acuerdo al conocimiento popular, se le han atribuido propiedades medicinales tales como: analgésicas, relajantes musculares, antidepresivas, hipnóticas, inmunosupresoras, antiinflamatorias, ansiolíticas, broncodilatadoras, entre otras³. Es una de las plantas más antiguas que producen efectos psicotrópicos.

Cannabis sativa L. es una planta anual que pertenece a la familia Cannabaceae, fue clasificada botánicamente por primera vez en 1753 por Carlo Linnaeus. Posteriormente, en 1785, Jean Baptiste Lamarck descubre otra especie a la cual denomina *C. indica*. Actualmente se reconocen trece especies, incluidas *C. sativa* y *C. indica*; *C. americana*, *C. chinensis*, *C. erratica*, *C. faetens*, *C. generalis*, *C. gigantea*, *C. intersita*, *C. kafiristanica*, *C. lupulus*,

C. macrosperma y *C. ruderalis*; además de una serie de variedades para las especies *C. sativa* y *C. indica*⁴.

C. sativa es una planta herbácea anual de hasta 4 metros de alto, dioica, de tallo recto y hojas palmadas estipuladas, las inferiores opuestas y las superiores alternas. Las hojas se encuentran sobre pecíolos de hasta 7 centímetros de largo. Cada hoja se compone de 3 a 9 folios angostos, de ápice agudo, con márgenes serrados y tricomas glandulares recostados sobre el haz y el envés de un color más claro. Los tricomas glandulares producen una resina como una forma de proteger a la planta contra las agresiones externas. Tiene inflorescencias en las axilas de las hojas superiores o al terminar las ramas, con brácteas herbáceas y glandulosas.

Las inflorescencias masculinas son ramificadas, laxas y con muchas flores; mientras que, las femeninas son densas, pero con pocas flores (de 5 a 8). Las flores masculinas son pediceladas, con perianto de 5 pétalos; y las femeninas son sésiles, con perianto entero, membranáceo y pegado al ovario, persistente en el fruto, ovario con un sólo óvulo y 2 estigmas. El fruto es un aquenio, con una sola semilla, ovoide, algo comprimido blanco o verdoso teñido de púrpura, encerrado en el perianto³.

La composición química de esta especie se ha estudiado ampliamente. Se han identificado aproximadamente 500 compuestos, entre los que se encuentran cannabinoides, terpenos, flavonoides, alcaloides, estilbenos, amidas fenólicas y lignanamidas⁵.

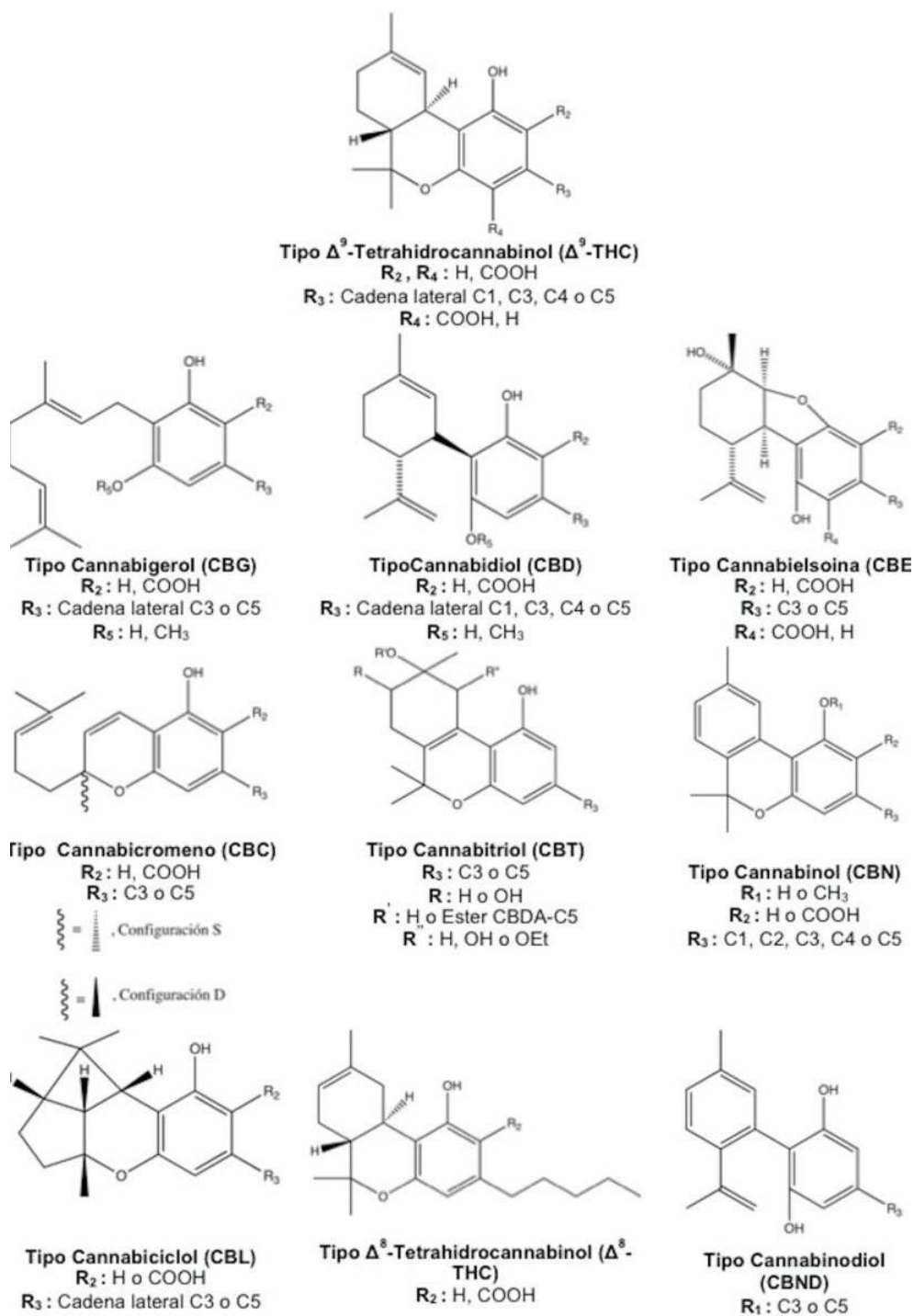


- | | |
|--|--|
| A Inflorescencia de la planta masculina (estaminada) | 7 Flor pistilada en la que se aprecia el ovario (sección longitudinal) |
| B Planta femenina (pistilada) con fruto | 8 Semilla (aquenio*) con bráctea |
| 1 Flor estaminada | 9 Semilla sin bráctea |
| 2 Estambre (antera y filamento corto) | 10 Semilla (vista lateral) |
| 3 Estambre | 11 Semilla (sección transversal) |
| 4 Granos de polen | 12 Semilla (sección longitudinal) |
| 5 Flor pistilada con bráctea | 13 Semilla sin pericarpio (pelada) |
| 6 Flor pistilada sin bráctea | |

Figura N°1. Aspectos morfológicos de *Cannabis sativa* L.⁶.

Los cannabinoides son los metabolitos más abundantes y exclusivos de esta especie. Se conocen alrededor de 70, de los cuales el más estudiado es el Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC)³ (Figura N°2). Son los de mayor importancia debido a que son capaces de interactuar con todo un sistema de receptores endógenos (sistema cannabinoide endógeno). Además, son de naturaleza terpenofenólica y se concentran generalmente en la resina producida en los tricomas de la planta, sobre todo en las inflorescencias femeninas. Los cannabinoides son sintetizados y acumulados como ácidos cannabinoides, y no es sino hasta el proceso de secado y almacenaje, que los ácidos se descarboxila gradualmente hasta alcanzar su forma final como por ejemplo el THC o el cannabidiol (CBD)⁷.

El efecto psicotrópico de estos compuestos se encuentra bien documentado, aunque también se les han atribuido otros efectos farmacológicos, tales como: antinociceptivo, antiepiléptico, cardiovascular, inmunosupresivo, antiemético, estimulante del apetito, antimicrobiano, antiinflamatorio, neuroprotector; y efectos positivos en síndromes psiquiátricos, tales como depresión, ansiedad y desordenes del sueño.

Figura N° 2. Cannabinoides presentes en Cannabis³

El Δ -9-THC es el cannabinoide con mayor potencia psicoactiva, por lo que estas propiedades en una muestra de cannabis dependerán de su contenido en este compuesto. Presenta propiedades hidrófobas por lo que es muy soluble en lípidos. Esto le confiere unas características, en relación con su distribución en el organismo y con su eliminación, que le diferencian de otras drogas de abuso. Es bastante inestable, pudiendo ser degradado por el calor, luz, los ácidos y el oxígeno atmosférico, lo que podría explicar la pérdida de potencia que se produce durante su almacenamiento.

Las propiedades de los cannabinoides dependen de su estructura química. Variaciones mínimas en los componentes de la molécula del THC pueden provocar cambios importantes en su actividad. La disposición de sus átomos en el espacio y la posible existencia de enantiómeros también puede influir en las propiedades de la molécula. Diversos estudios realizados desde la década de los sesenta han servido para caracterizar la estructura de estos compuestos.

Las diferentes investigaciones han permitido establecer algunas de las características que debe cumplir una molécula para poder presentar actividad cannabimimética⁸. Así que para que un cannabinoide sea psicoactivo debe contener en su molécula:

- La estructura del dihidrobenzopirano.
- El hidroxilo fenólico debe estar libre, la sustitución de este hidroxilo por un amino, disminuye considerablemente esta actividad, mientras que la sustitución por un tiol la elimina.
- La hidroxilación en C-11 mantiene la actividad, pero su posterior oxidación a carboxilo la elimina.
- La posición del doble enlace en el anillo de ciclohexeno parece variar la actividad, siendo la óptima para Δ -9-THC.

- El grupo metilo en C-9 no es un requerimiento absoluto para el mantenimiento de la actividad.
- La cadena lateral es de gran importancia para la actividad cannabinomimética. Cuando el resto alquílico n-pentilo se elonga y ramifica aumenta la potencia.

El conocimiento de las relaciones existentes entre la estructura y la actividad de los cannabinoides ha permitido el diseño de análogos que han sido de gran utilidad en el estudio farmacológico y fisiológico de estos compuestos. Además, las sucesivas modificaciones de su estructura han permitido la preparación de derivados relacionados con alguna de las acciones farmacológicas atribuidas a estos compuestos, evitando las relativas a sus efectos psicotrópicos. En la actualidad, se están diseñando compuestos a partir de la estructura de los endocannabinoides que puedan tener una aplicación terapéutica y en los que no aparecían los efectos perjudiciales atribuidos a los cannabinoides de origen vegetal.

Absorción y distribución

Los cannabinoides pueden ingresar en el organismo de varias formas:

- Por inhalación del humo procedente de pipas de agua o de cigarrillos, lo que produce una rápida absorción.
- Por ingestión oral de bebidas o alimentos sólidos, con una absorción más lenta, lo que retrasa la manifestación de sus efectos.
- Por medio de aerosoles o pulverizadores, para evitar los efectos perjudiciales asociados al humo.
- En forma de gotas para el tratamiento ocular.
- Por administración rectal, para evitar los problemas de absorción y las primeras etapas de degradación asociadas a su ingesta oral.

Los preparados de *C. sativa* (hachis, marihuana), se consumen principalmente en forma de cigarrillos, por lo que son absorbidos por los pulmones, acompañados por los otros componentes del humo. El grado de absorción depende de diversos factores:

- Del tipo de preparación utilizada, lo que implica la presencia en mayor o menor cantidad de diferentes tipos de cannabinoides y de otros compuestos químicos.
- De la combustión de la mezcla, como demuestra el hecho de que los cannabinoides ácidos se descarboxilan con bastante rapidez cuando están expuesto al calor.
- Del tiempo empleado en fumarlo ya que la duración de la inhalación y de la retención del aliento tras la aspiración, dan lugar a diferentes tiempos de contacto entre las sustancias presentes en el preparado y las vías respiratorias del individuo que las consume⁹.

La ingestión de los cannabinoides por vía oral da lugar a unos niveles plasmáticos de THC inicialmente más bajos que cuando se inhala. Por vía oral, su biodisponibilidad se ve reducida por su sensibilidad a la acidez del jugo gástrico, por el metabolismo hepático e intestinal, así como por su acceso a la circulación enterohepática. Por lo tanto, se tiene que ingerir una cantidad mayor de THC por esta vía para conseguir el mismo efecto fisiológico que por la vía aérea. Además, se ha visto que, tras la ingestión oral de THC, se produce un aumento gradual de su concentración en sangre durante un periodo de tiempo que puede durar varias horas, lo que retarda la aparición de sus efectos psicoactivos⁹.

Los estudios sobre la biodisponibilidad del THC muestran considerables diferencias entre la vía pulmonar y la oral. Fumar parece ser el método más eficaz de administrar la droga. La entrada del THC en sangre y la posterior

distribución en tejidos son muy rápidas y presentan una cinética muy similar a la obtenida tras su administración intravenosa. La administración oral conduce a unos niveles plasmáticos mucho más erráticos que los observados después de fumar.

Solo un 3% del THC presente en sangre está en forma libre. Dadas sus propiedades hidrófobas, se une a diferentes componentes plasmáticos. Un 9% está unido a las células sanguíneas. Otro 60% lo está a las lipoproteínas plasmáticas y el resto a albúmina⁹.

En cuanto a su distribución en los tejidos corporales, el THC es captado del plasma en un 70% por los tejidos y el resto es metabolizado¹⁰. Este reparto está limitado por la baja concentración de su forma libre en sangre, por lo que depende del flujo sanguíneo. Dada su alta lipofilidad penetra rápidamente en los tejidos, encontrando altas concentraciones en aquellos que están altamente vascularizados. Tras la administración aguda de THC se observa una acumulación apreciable de radioactividad en pulmón, hígado, riñón, corazón, estómago, bazo, tejido adiposo marrón, placenta, corteza adrenal, tiroides, pituitaria y glándula mamaria. El marcaje es más bajo en cerebro, tejido fetal y testículos. Posteriormente se redistribuye al tejido adiposo, siendo este tejido junto con el bazo sus principales depósitos tres días después de su ingesta. La droga puede tardar varias semanas en ser totalmente eliminada tras el cese de su administración⁹.

Como consecuencia de su retención en estos reservorios hidrófobos se enlentece la penetración del THC en el cerebro, donde su concentración y la de sus metabolitos es relativamente baja (aproximadamente un 1% de la concentración plasmática máxima). La paulatina liberación de THC, desde los almacenas tisulares a la sangre, enlentece la caída de los niveles plasmáticos

de este compuesto, tras el cese de su administración. Esto prolonga su presencia en sangre y la posterior entrada al cerebro. Esta podría ser la explicación de la ausencia de un síndrome de abstinencia, tras la suspensión de su ingesta, a diferencia de lo que ocurre en la adicción a opiáceos¹¹.

Metabolismo y excreción

Solo una mínima cantidad de Δ -9-THC es eliminada del cuerpo en su forma original, mientras que la mayor parte aparece en forma de metabolitos en heces (un 68%) o en orina (12%). La droga está también presente en otros tejidos y fluidos biológicos como el cabello, la saliva y el sudor. La mayor parte del metabolismo ocurre en el hígado, aunque también puede producirse en otros órganos como el pulmón y el intestino.

En fumadores crónicos de marihuana hay un aumento significativo en la cantidad excretada por orina. Los metabolitos procedentes de la degradación de los cannabinoides son eliminados en forma de ácidos libres o conjugados con glucurónico o con ácidos grasos. Para poder realizar esta reacción de condensación es necesario que se produzca una esterificación entre los grupos hidroxilo de los cannabinoides y los grupos carboxilo de los compuestos con los que se conjugan. Los glucuronatos así formados se almacenan en el cuerpo durante períodos relativamente prolongados de tiempo y pueden llegar a ser detectados en la orina varias semanas después del consumo de los cannabinoides¹².

Así también se ha podido demostrar en ratas preñadas que los cannabinoides pueden pasar a través de la placenta desde la sangre materna a la fetal. Durante el embarazo, los niveles presentes en los fetos corresponden aproximadamente al 10% de los niveles plasmáticos maternos. La exposición

repetida a múltiples dosis produce la acumulación de dichos compuestos en los fetos, ya que estos no parecen disponer todavía de los mecanismos necesarios para su degradación. Los cannabinoides también son excretados en la leche materna durante la lactancia, lo que implica la exposición de las crías a este compuesto⁹.

3.1.3. Epidemiología del uso/abuso del cannabis

Al igual que con otras drogas, la mayoría de las personas que han consumido cannabis no desarrollan un problema de adicción. Sin embargo, el número de personas que en algún momento de sus vidas cumplen los criterios para un trastorno por consumo de cannabis como se define en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-IV) es más del doble de los que cumplen criterios para cualquier otra droga ilícita¹³. Esto refleja el hecho de que muchas más personas han consumido cannabis alguna vez en comparación con las que han abusado de otras drogas ilícitas. Por el contrario, el porcentaje de personas que han consumido cannabis alguna vez y que desarrollan dependencia es menor que con otras sustancias ilícitas; por ejemplo, el 15% de los que prueban la cocaína y 24% de los que prueban la heroína desarrollan dependencia.

Resulta preocupante que la prevalencia de los trastornos por consumo de cannabis ha ido aumentando a pesar de tasas estables de consumo. Marihuana con una mayor concentración de THC disponible en las calles y una edad más temprana de inicio del consumo pueden haber contribuido a esto. El inicio temprano del consumo de cannabis (o de cualquier sustancia de abuso) es particularmente preocupante ya que es un fuerte predictor tanto del consumo de sustancias como de problemas de salud mental en la edad adulta joven.

Los fenómenos que ocurren a partir de los trastornos por consumo de cannabis parecen bastante similares a la de otros trastornos por consumo de sustancias ilícitas en la mayoría de los aspectos. Los adultos en tratamiento por trastorno por consumo de cannabis que lo han utilizado diariamente durante años por término medio, e hicieron varios intentos sin éxito para dejarlo. Experimentan la gama completa de síntomas de abuso o dependencia. Por ejemplo, describen que continúan usando cannabis a pesar de experimentar problemas sociales, psicológicos y físicos relacionados con su uso; se perciben a sí mismos como incapaces de dejar de consumir y la mayoría experimentan síntomas de abstinencia cuando lo dejan de golpe. Por otra parte, reconocen problemas familiares y de pareja y culpabilidad asociada con el consumo, así como dificultades financieras, falta de energía y autoestima, insatisfacción con sus niveles de productividad, problemas de sueño y memoria, y baja satisfacción en la vida.

A pesar de la similitud en los síntomas por consumo de cannabis y otras drogas, manifiesta diferencias en su gravedad¹⁴. Por término medio, las personas con dependencia al cannabis no cumplen con tantos criterios de dependencia del DSM como aquellas con dependencia al alcohol, cocaína u opiáceos. La abstinencia causa incomodidad, pero no tiene riesgos importantes para la salud, y las consecuencias para la salud y relaciones psicosociales, aunque numerosas, son por término medio, no tan graves. A pesar de que el síndrome de dependencia es leve, dejar de usar cannabis una vez que el uso es problemático no parece ser más fácil que dejar de usar otras sustancias.

Paralelamente al aumento de los trastornos por consumo de cannabis, los ingresos en los servicios de tratamiento han incrementado dramáticamente en algunos países (ej. Estado Unidos, Australia) de tal forma que los porcentajes

de las personas que están en tratamiento por consumo de cannabis son comparables a los de las personas en tratamiento por consumo de cocaína y heroína. Esto se puede deber al aumento del número de individuos que desarrollan trastornos por consumo de cannabis, al creciente reconocimiento y aceptación de la necesidad de tratamiento, y a la disponibilidad de tratamientos específicos. Por otra parte, la propia existencia de programas de tratamiento puede facilitar la admisión del potencial adictivo del cannabis, lo que puede dar lugar a que más consumidores de cannabis contemplen la posibilidad de que podría ser un problema significativo para ellos.

Entre los adolescentes que se someten a tratamiento, el cannabis es, por mucho, la sustancia más comúnmente utilizada (administración de servicios de salud mental y abuso de sustancias, 2008). En Estados Unidos, más del 40% de los que inician tratamiento son personas menores de 20 años. Los adolescentes parecen ser más vulnerables que los adultos a desarrollar un trastorno por consumo de cannabis: el uso precoz lleva más rápidamente al desarrollo de problemas.

3.1.2. Efectos farmacológicos de los cannabinoides

Según los efectos farmacológicos que los cannabinoides producen en los distintos órganos y sistemas, se puede describir el resultado de todos estos efectos en el humano.

Sintomatología aguda:

- Sistema cardiovascular: se han observado taquicardias sinusales (120 -140lpm), aunque a dosis elevadas pueden producir bradicardia, hipotensión ortostática, alteraciones electrocardiográficas inespecíficas.

- Aparato respiratorio: los cannabinoides producen broncodilatación, sobre todo en personas con cierto grado de broncoconstricción, aunque, por lo general, este efecto se ve enmascarado por el efecto irritante del humo: laringitis, traqueítis y bronquitis.
- Aparato digestivo: la administración de THC puede producir diarrea, aunque se supone que es debido a la contaminación por E. coli o Salmonella.
- Ojo: aunque la irritación de los ojos es el efecto característico, debido al humo, los cannabinoides producen dilatación de vasos conjuntivales y enrojecimiento ocular característico. En algunos casos puede evidenciarse ptosis y disminución de la presión intraocular.
- Efectos psicológicos: En cuanto a los efectos psíquicos subjetivos, estos se inician a los pocos minutos de la inhalación y duran 1- 1.5 horas (si la administración es oral, se inician más tarde y duran más). En resumen, comienzan con un periodo excitatorio, con una sensación de euforia y bienestar. La percepción temporal está alterada, lo mismo con la percepción de la música y de los colores.

Tras una exposición aguda del compuesto aparece la segunda fase de la secuencia bifásica que es un estado de relajación:

- Las funciones motoras complejas se ven también alteradas. Esto genera riesgo al conducir vehículos bajo los efectos de los derivados de Cannabis, y hay estudios que demuestran que hay una alteración en la percepción de las distancias y un aumento del tiempo de reacción. Sin embargo, otros estudios no llegan a datos tan concluyentes, por lo que hasta la fecha no se puede establecer esta relación.
- Efectos psicológicos y psiquiátricos: los fumadores crónicos de estas

sustancias pueden desarrollar cuadros de reacciones de pánico, impresiones retrospectivas, reacciones psicóticas, ansiedad, depresión y trastornos de la memoria inmediata.

- Hormonas y reproducción: aunque en una primera fase estos compuestos aumentan el interés sexual, en fumadores crónicos se demuestra una disminución de la libido. En mujeres, ciclos anovulatorios, y en varones anomalías estructurales y/o en la movilidad de los espermatozoides y oligospermia.
- Otros efectos: sequedad de boca, sed y aumento del apetito (con una predilección especial por los dulces, sin que esto se haya podido relacionar con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono).

Efectos del consumo de cannabis durante el embarazo y la lactancia

Los efectos de la exposición in útero a varias sustancias psicoactivas, en particular alcohol y cocaína, han sido ampliamente estudiados; sin embargo, el conocimiento del impacto del consumo de cannabis en el embarazo y en el desarrollo fetal es menor¹⁵. La edad donde se da la mayor frecuencia de consumo de cannabis y otras drogas de abuso, es en la edad reproductiva. Los cannabinoides poseen características cinéticas y mecanismos de acción que suponen riesgo de exposición fetal y en la lactancia debido a que en el embarazo se presentan cambios fisiológicos que facilitan la exposición fetal.

Existe evidencia de que los cannabinoides y otros componentes del cannabis atraviesan la placenta y se excretan a través de la leche materna, y de esta forma tanto el feto como el recién nacido y el lactante pueden verse expuestos a éstos. Se ha detectado la presencia de Δ -9-THC en la sangre fetal, representando entre un tercio a una décima parte del nivel en sangre materna.

El THC puede acumularse en la leche materna en concentraciones hasta ocho veces mayores que en el plasma¹⁶.

- Durante el embarazo existen cambios fisiológicos que pueden alterar la cinética de la marihuana en el organismo¹⁷: Aumento del volumen corriente respiratorio y la disminución del volumen residual pulmonar pueden incrementar su absorción inhalatoria.
- La eliminación de reservas lipídicas al final del embarazo puede favorecer la liberación de cannabinoides acumulados en el tejido adiposo.

El consumo habitual o crónico en mujeres embarazadas puede provocar un bajo peso en neonatos y existe un mayor número de ingresos a unidades de cuidados intensivos. Los principios activos del cannabis pueden alterar el intercambio placentario y el transporte de nutrientes a través de la placenta.

El consumo de marihuana fumada altera el flujo sanguíneo de la arteria uterina, pudiendo comprometer el aporte transplacentario de nutrientes. Los altos niveles de monóxido de carbono que se alcanzan en la embarazada que fuma marihuana limita aún más el transporte de oxígeno a través de la placenta. Por otra parte, el consumo de cannabis se ha asociado con mayor prevalencia de anemia durante el embarazo. Entre las complicaciones neonatales más estudiadas, no se encuentra asociación con muerte perinatal, ni con la aparición de síndrome de abstinencia en el nacimiento o cambios comportamentales neonatales¹⁸.

Si bien algunos estudios experimentales y clínicos han evidenciado que la exposición a cannabis durante el embarazo y la lactancia puede alterar el neurodesarrollo, no existe un consenso en relación con diferencias significativas de trastornos a largo plazo en niños y niñas expuestos, en

comparación con aquellos no expuestos. Las alteraciones neurológicas y cognitivas en niños y niñas que tienen mayor evidencia de asociación con expuestos a cannabis antes del nacimiento son: alteraciones de la agudeza visual, del razonamiento y de la comprensión verbal, así como de la memoria a corto plazo.

Cannabis y lactancia

Se conoce que los cannabinoides pasan a la leche materna y que los lactantes están expuestos a través de esta vía. Se detecta Δ -9-THC y su metabolito (11-hidroxi-delta-9 tetrahidrocannabinol), así como el cannabidiol en la leche materna de consumidoras de cannabis con una relación 8:1 en comparación con los niveles hallados en sangre. Se ha encontrado el metabolito del Δ -9-THC en las heces de lactantes en concentraciones significativamente mayores que en la leche materna, lo que sugiere que este principio activo se metaboliza en el niño. El Δ -9-THC puede tardar dos a tres semanas en eliminarse a través de la orina del recién nacido. Es altamente lipofílico y se acumula en el cerebro y tejido adiposo de niños y niñas, sobre todo en los dos primeros años de vida. Varios autores muestran que el Δ -9-THC puede alterar el normal crecimiento y desarrollo cerebral en la primera infancia. Se han evidenciado efectos neurológicos en lactantes hijos de madres consumidoras de cannabis, tales como depresión de conciencia, disminución del tono muscular y dificultad en la succión. Además, el consumo de cannabis durante el primer mes posparto se ha relacionado con alteraciones del desarrollo motor al año de vida. La mayoría de las madres que consumen cannabis en ese período también lo han hecho antes del nacimiento, por lo que es difícil atribuir este efecto negativo únicamente al período posnatal¹⁸.

El consumo de sustancias en esta etapa puede conducir a daños irreversibles, que son 100% prevenibles si se plantea y se ofrece atención para mantener la abstinencia durante el embarazo. El conocimiento actual sobre las características del cannabis, las formas de consumo y los efectos adversos potenciales sobre la madre y su hijo, permiten orientar pautas específicas para la identificación del riesgo y su manejo en el caso de consumo de marihuana durante el embarazo y la lactancia. Hasta el momento, el principio precautorio establece la necesidad de recomendar la abstinencia del consumo durante este período.

3.2. Matrices biológicas clásicas y alternativas en Toxicología

Cada matriz biológica proporciona una información diferente de interés en los análisis, de tal manera que es necesario seleccionar correctamente la matriz a analizar en función del propósito para el que se realizará dicho análisis¹⁹.

Las matrices biológicas que tradicionalmente se conocen son la sangre y la orina en las cuales se han realizado análisis de rutina debido a su disponibilidad y características. Por lo cual a estas dos matrices biológicas se les conoce como clásicas. La sangre (y por similitud el plasma y el suero) permite establecer una correlación entre la concentración hallada para una sustancia con los efectos o síntomas producidos sobre el individuo en el momento de la toma de la muestra. No obstante, la vida media de la mayoría de las sustancias en sangre es inferior a las 24 horas, lo que limita su utilidad cuando la toma de muestra se efectúa con retraso o se requiere conocer un consumo pasado. Además, la toma de muestra es invasiva y por ello requiere personal especializado para su recolección, cuando se realiza fuera del ámbito hospitalario.

La orina es producida continuamente por el riñón como un ultrafiltrado de la sangre, y mediante su producción son eliminados el exceso de agua y productos de desecho producidos por el cuerpo. La composición y cantidad diaria producida pueden variar considerablemente en función de la cantidad de líquidos ingeridos, la dieta, el estado de salud, el uso de ciertos medicamentos y las condiciones ambientales. La orina es la muestra más utilizada para el *screening* en los análisis toxicológicos debido a sus características: las concentraciones de los compuestos diana y sus productos de biotransformación (metabolitos) son mayores; el volumen de muestra disponible suele ser mayor y su ventana de detección es superior (días en lugar de horas). Se debe tener en cuenta que su adulteración es sencilla y, por ello, la toma de muestra debe ser realizada bajo supervisión, lo que conlleva una invasión de la intimidad del individuo.

En las últimas décadas otras matrices, denominadas matrices biológicas alternativas, han aportado una nueva herramienta para la interpretación de los resultados toxicológicos. En general, estas matrices alternativas presentan como ventaja sobre las matrices clásicas una toma de muestra menos invasiva y más sencilla, aportando además información no suministrada por las matrices clásicas, debido a sus diferentes ventanas de detección. Como desventaja se debe destacar las bajas concentraciones que suelen presentar en ellas los compuestos y sus metabolitos, por lo que requieren el empleo de equipos analíticos con una alta sensibilidad para su análisis. Las principales matrices alternativas son el cabello, el fluido oral, el sudor y el meconio; pero también pueden incluirse en este grupo matrices menos utilizadas como los dientes, las uñas, la placenta, el cordón umbilical, la vérnix caseosa, etc²⁰.

El cabello fue la primera matriz alternativa en ser empleada en el campo de la Toxicología, siendo Baumgartner el primero en utilizarla en 1979²⁰. La principal

aportación que supone la utilización del cabello en el campo de la Toxicología, frente a las matrices tradicionales, es su amplia ventana de detección, ya que las drogas, una vez incorporadas al cabello, no son eliminadas por el lavado del cabello y, por tanto, permanecen en el interior del mismo, meses o incluso años. Consecuentemente, la ventana de detección de esta matriz biológica sólo se ve limitada por la longitud del mechón de cabello a analizar.

Esta característica otorga la posibilidad de realizar estudios del patrón cronológico de consumo, es decir, conocer si el consumo disminuye, aumenta o cesa durante un período de tiempo que sólo depende de la longitud del mechón, mediante el análisis de segmentos continuos y sucesivos de cada uno de estos. Además, la toma de muestra es sencilla, ya que no requiere personal médico para su realización, y es no invasiva, pudiendo ser fácilmente supervisada para evitar la manipulación o adulteración de la muestra. De igual manera si es necesario recoger una segunda muestra de características similares a la inicial, esta puede ser obtenida sin ningún problema de la misma persona. Por último, otra ventaja del uso del cabello como matriz biológica es que tanto su almacenaje como su transporte se realiza de una forma sencilla, sin necesidad de ninguna medida de conservación especial.

3.3. El cabello como matriz biológica

3.3.1 Formación y estructura

El cabello es un tejido sólido muy complejo que se origina en los folículos pilosos (FP) está formado por múltiples estructuras. Tiene un segmento inferior y uno superior, ambos se encuentran dentro de la piel (epidermis y dermis) (Figura N°3)

El segmento inferior posee dos secciones las cuales son bulbo y tallo. El bulbo se extiende desde la base de la papila folicular, también llamada papila dérmica, hasta el área conocida como franja de Adamson (donde termina la

zona queratogena del pelo); el tallo abarca desde la franja de Adamson hasta el sitio de inserción del músculo erector del cabello (Figura N°3). En el interior del bulbo se encuentra la papila folicular, y en ella se encuentran células madres como lo son los melanocitos, melanosomas, capilares arteriales y venosos que nutren al cabello. El segmento superior se divide en dos porciones: istmo e infundíbulo. El primero, se extiende desde el sitio de inserción del músculo erector del pelo hasta la glándula sebácea y el infundíbulo.

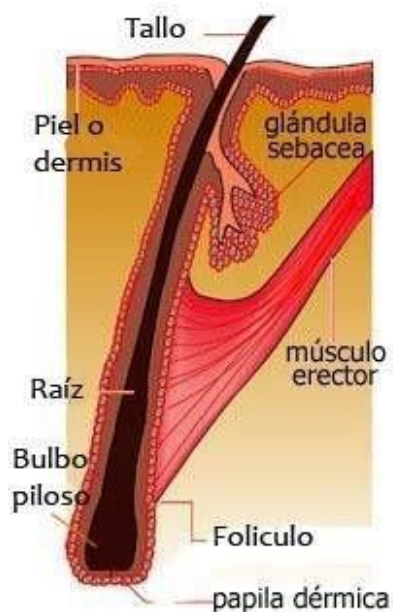


Figura N° 3. División del folículo piloso.²¹

Las capas de células concéntricas que recubren al bulbo y al tallo desde su interior hacia el exterior son el tallo (que lo forman las células medulares), corteza del tallo y cutícula del tallo (Figura N°4). La médula es la capa central y la que proporciona el diámetro final al cabello en función de su tamaño, puede llegar a no estar presente en aquellos cabellos de menor diámetro, las células que forman la médula están queratinizadas y deshidratadas.

La capa intermedia está formada por la corteza del tallo, esta se encuentra fuertemente adherida a la médula y la rodea, esta capa es la que compone la mayor parte del tallo piloso y está compuesta por largas células queratinizadas, aquí es donde se acumulan los gránulos de pigmentos que proporcionan al cabello su color, la melanina es el principal pigmento del cabello y se forma en unas células especiales llamadas melanocitos. La última capa está conformada por la cutícula del tallo, esta es la que recubre a las capas anteriores y se encuentra fuertemente adherida a la corteza, consta de 5 a 7 capas de células alargada, la cual poseen la función de anclar el tallo piloso al folículo y proteger las fibras interiores de las agresiones externas.

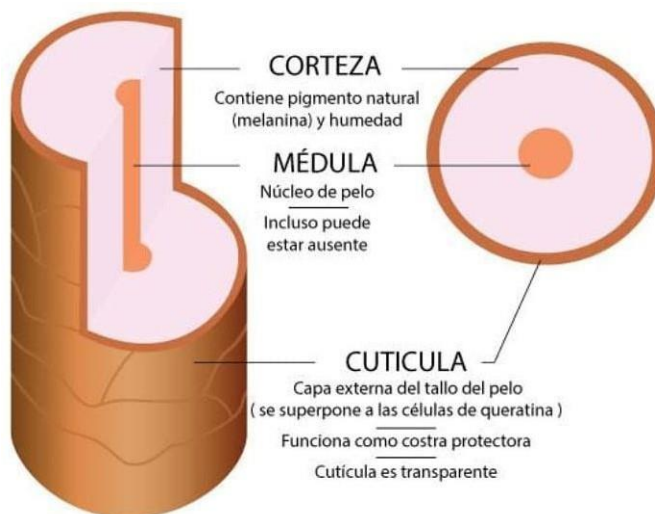


Figura N° 4. Sección de las capas concéntricas (médula, corteza y cutícula) que forman el tallo piloso.²¹

Tanto el bulbo como el tallo están rodeados por las capas antes mencionadas; sin embargo, el tallo no tiene capilares. Las células más importantes del cabello son melanocitos, queratinocitos y células madre. Los melanocitos se encuentran en la papila folicular, matriz del cabello y vaina radicular externa

(VRE). Los queratinocitos se encuentran en la capa más externa del cabello (estrato basal). Aquí también se encuentran células madre que producen queratinocitos y melanocitos, así como en la papila folicular. La papila folicular produce células que se diferencian hasta transformarse en el tallo piloso, el cual crece progresivamente y forma el cabello terminal. El diámetro del tallo piloso mide entre 50 y 120 μm . En las personas de ascendencia asiática es más grueso, y en las caucásicas, más delgado. La longitud del cabello va de 1 mm a 50 cm.

3.3.2. Incorporación de las drogas y fármacos al cabello

Las diferentes drogas y fármacos pueden incorporarse al cabello en distintos sitios, por múltiples mecanismos y en varios momentos del ciclo de crecimiento del cabello (Figura N°5), en la que se aceptan tres mecanismos diferentes los cuales son:

- Incorporación por difusión pasiva: La papila dérmica es un tejido con alta proliferación celular, por lo que se encuentra altamente irrigado, de tal forma que las drogas presentes en la sangre difunden principalmente por difusión pasiva incorporando la droga desde la sangre que nutre la papila dérmica hacia las células en crecimiento en el folículo piloso o durante la formación del eje piloso, a través de la membrana celular, incorporando las drogas presentes en la sangre en el interior de los queratinocitos y melanocitos en formación.

La distribución de drogas a través de las membranas celulares es facilitada generalmente por la alta solubilidad lipídica, ya que al aumentar su lipófila puede penetrar con mayor facilidad las membranas y por lo tanto difundir a favor de gradiente hacia el interior celular. Por otra parte, los factores físico químicos como la forma no ionizada de las drogas en la sangre difundirán con mayor facilidad a través de la membrana y dado que el pH intracelular de los

queratinocitos y de los melanocitos es más ácido que el del plasma (de 3 a 6 en los queratinocitos y melanocitos, frente a 7.3 del plasma), las moléculas básicas penetran con mayor facilidad en el interior celular. La difusión de drogas desde capilares de sangre arterial a las células de la matriz en la base del folículo piloso es considerada la causa principal de deposición de drogas en el cabello que presumiblemente se unen a pigmentos y otros componentes de la matriz, que permiten obtener un perfil cronológico del consumo de drogas de abuso, mediante el análisis de segmentos continuos y sucesivos de un mechón de cabello²¹.

- Incorporación por difusión desde el sudor y las secreciones sebáceas: Debido a que el cabello es muy poroso, este puede aumentar hasta un 18% de su peso al absorber líquidos y, por lo tanto, las sustancias presentes en el sudor y en las secreciones sebáceas pueden ser transferidas hacia el cabello y retenidas en él. Si la droga está presente en el sebo puede depositarse en el cabello a través de un íntimo contacto de éste con la piel del cuero cabelludo.

El sudor juega un rol importante en la incorporación de drogas en el cabello. Los analitos predominantes generalmente encontrados en cabello son las drogas intactas, o sea sin metabolizar en vez de los metabolitos más polares que preferiblemente predominan en orina. La gran variabilidad interindividual en la producción de estas dos secreciones puede explicar la gran dispersión de concentraciones encontradas en individuos que han recibido la misma dosis, así como la dispersión de las drogas por una larga zona del tallo piloso, que no se corresponde con la dosis y tiempos administrados.

- Incorporación por exposición pasiva a las drogas en el ambiente: esta exposición puede llevarse a cabo a través de la suspensión de las drogas en el ambiente, del humo producido al fumarlas, del contacto con las manos

contaminadas, etc. Como el cabello es una matriz porosa, si se ve expuesto a ambientes con elevadas concentraciones de contaminantes, estos pueden incorporarse a sus capas más externas, como lo puede ser un ambiente cerrado donde se fuma cannabis. Esta exposición no indica consumo activo, y es por ello que las proporciones entre los compuestos y sus metabolitos suelen presentar unos valores diferentes a los encontrados en aquellos casos en los que, si se produce dicho consumo activo, y por lo tanto si ha existido una incorporación desde la sangre. Una de las formas que se sugieren para distinguir la droga proveniente de una contaminación externa, del uso voluntario de la misma sería encontrar metabolitos de la droga en la estructura íntima del cabello. Este tipo de exposición debe ser eliminada mediante la realización de procedimientos de lavado previos a la realización de los análisis, para minimizar su aportación y evitar resultados falsos positivos.

La disposición de las drogas incorporadas al cabello dependerá, por lo tanto, de una combinación entre la velocidad a la que crece y el tiempo que permanece cada folículo en cada una de las fases del ciclo de crecimiento. Estos dos factores varían, a su vez, en función de diferencias interindividuales como la raza, el sexo y la edad, del tipo de cabello del que se trata y de la localización anatómica del mismo. Debido a esta gran variabilidad, el cabello de la región del vértex posterior fue seleccionado como el indicado para la realización de los análisis de drogas, ya que en esta zona la cantidad de folículos en fase anágena es mayor y la ratio de crecimiento es más estable. Diferentes estudios han observado que la velocidad de crecimiento en esta zona varía entre 0,6 a 1,4 cm al mes; y aproximadamente el 85% del cabello se encuentra en fase anágena, mientras que 15% restante está en una de las otras dos fases^{22,23}. Como simplificación, se estableció que la velocidad de crecimiento del cabello en esta región es de 1 cm al mes²⁴.

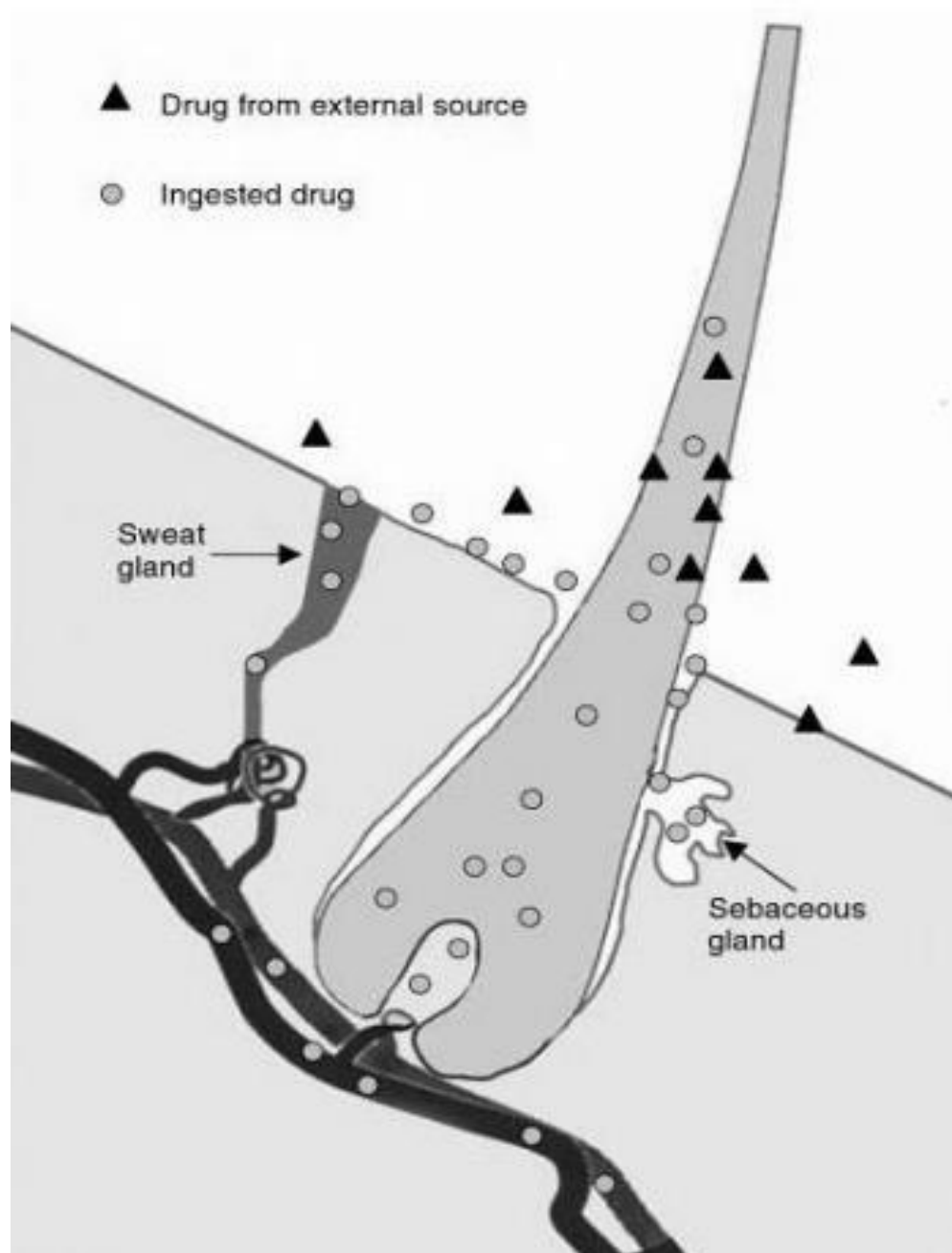


Figura N° 4. Modelo de incorporación de las drogas al pelo mediante tres mecanismos de incorporación a través de la sangre que nutre la papila dérmica, incorporación a través del sudor y del sebo que bañan la fibra capilar e incorporación a través de la exposición pasiva al ambiente (polvos, vapores o humos con drogas). Modificado de Kronstrand et al.²⁵.

3.1.2. Aplicaciones del análisis de cabello en el ámbito de la Toxicología Clínica y Forense

El cabello es una parte muy compleja de nuestra anatomía, se forma en el folículo piloso y en un adulto se estima que hay unos 5 millones de folículos, de los que un millón están en la cabeza. Las primeras aplicaciones del cabello como matriz biológica para el estudio toxicológico datan de 1858, cuando Casper publica un artículo sobre el hallazgo de arsénico en un cadáver exhumado 11 años después de su muerte. También es muy conocido el caso de Napoleón a quien se le encontró arsénico y otros compuestos 125 años después de su muerte; en el cabello de Beethoven se encontró plomo cuando había transcurrido un tiempo largo desde su fallecimiento.

El cabello es un anexo de la piel característico de los mamíferos, que está formado fundamentalmente por proteínas (65-95%, mayoritariamente queratina), agua (15-35%), lípidos (1-9%) y minerales (< 1%). Constituido por una serie de células superpuestas que forman la cutícula y células corticales que forman la corteza, en cuyo centro, las células condensadas forman la médula.

La investigación toxicológica de drogas de abuso en distintas matrices biológicas ha sido siempre objeto de estudio y se ha desarrollado enormemente en los últimos años. El análisis de cabello es una importante herramienta en el campo de la Toxicología, tanto clínica como forense, debido a sus características diferenciadoras en relación con las demás muestras disponibles.

Las muestras biológicas más empleadas para evaluar la presencia de drogas de abuso han sido tradicionalmente sangre, orina y otros fluidos corporales.

Mientras el análisis de sangre sólo permite extrapolar los valores de drogas existentes en el momento en que se recogieron las muestras, es decir poco tiempo después de su administración, en el análisis de orina las cantidades encontradas no se correlacionan necesariamente con el estado clínico del sujeto, pues al ser el riñón una de las vías de eliminación, las drogas se pueden acumular en ella.

El análisis de otras matrices no convencionales como cabello y uñas establecería el conocimiento de una drogadicción durante largos períodos de tiempo hasta un consumo crónico. Otras características y ventajas del cabello, si se compara con la sangre y la orina, son por un lado la posibilidad de establecer un perfil cronológico del consumo de drogas, es decir, conocer si el consumo disminuye, aumenta o cesa durante un período de tiempo que sólo depende de la longitud del mechón; y, por otro lado, el cabello nos permite conocer la asiduidad en el consumo de drogas.

Este tipo de análisis tiene un gran interés en la resolución de casos forenses donde el cabello es el único espécimen obtenido de un cadáver, debido a factores externos donde no se han podido obtener, debido al estado de putrefacción, otras matrices biológicas. También puede proporcionar información útil, por ejemplo, en situaciones de conducción bajo el efecto de las drogas, renovaciones de licencias, evaluación de cumplimiento con terapia de sustitución de drogas para documentar abuso de alcohol. Otros casos de análisis de drogas en cabello en el ámbito de la Toxicología Forense se utilizan en forma rutinaria, en casos de divorcio y de custodia de hijos, en cadáveres en avanzado estado de putrefacción para establecer consumo de drogas previo a su muerte, en casos de agresiones sexuales o crímenes provocados por sumisión química, control de sustancias dopantes (de forma rutinaria en orina).

3.4. Protocolos generales de análisis

En el año 2012 la Society of Hair Testing (SoHT) estableció una guía de buenas prácticas para aquellos laboratorios que realizan análisis toxicológicos de cabello¹⁹. Esta guía se utilizará para el análisis de muestras de cabello, debido a que a comparación de otras matrices biológicas, el cabello necesita un proceso de pretratamiento de la muestra complejo, incluyendo de igual manera una correcta toma de muestra, una serie de procesos destinados a minimizar la posible contaminación externa, una adecuada extracción de los analitos incorporados en la matriz sólida y el uso de métodos instrumentales suficientemente sensibles para conseguir detectar y cuantificar correctamente las bajas concentraciones de los analitos encontrados en esta matriz.

3.4.1. Recogida de la muestra y almacenamiento

La toma de muestra o recogida de muestras de cabello puede realizarse de diferentes regiones anatómicas como del cuero cabelludo, pubis, axila, o cualquier zona corporal con pelo. Esta investigación tiene como objeto el análisis de cabello en cuero cabelludo.

El pelo capilar es incluso el más útil por su crecimiento regular de 0.33 a 0.60 milímetros por día, la toma de la muestra debe realizarse en la parte posterior de la cabeza conocida como vértex posterior, debido a que es en esta zona donde existe menor variabilidad, por razones de edad o sexo, en el crecimiento de los folículos pilosos. Se debe recolectar la mayor cantidad posible de folículos en la fase anágena, ya que la papila está en estrecho contacto con el resto del organismo, a través de la circulación sanguínea, linfa y fluido extracelular. En general, se recomienda un mechón del diámetro de un lápiz. Por último, es recomendable realizar un segundo análisis de confirmación sobre el mechón de cabello cuando los resultados de la primera son positivos,

para corroborar el resultado del primer análisis.

El cabello no requiere condiciones especiales de almacenamiento. Las muestras deben ser conservadas a temperatura ambiente, introducidas simplemente en un sobre de papel, en papel de aluminio, o bien en un tubo de cristal o plástico, indicando donde se encuentra la raíz y donde la punta, por si se quiere realizar a posteriori un estudio secuencial del consumo de una droga a lo largo del tiempo. Es aconsejable almacenarlas en un lugar seco y oscuro, evitando la luz directa del sol, y no es recomendable guardarlas en la nevera o el congelador.

3.4.2. Segmentación del mechón

Dependiendo del tipo de caso, se pueden seguir diferentes estrategias para la segmentación. Se pueden cortar segmentos medidos de entre 10 y 30 mm con ayuda de una regla o papel milimetrado que permita medir correctamente la longitud del segmento, seguidas en algunos casos por acción mecánica como trituración o pulverización, para proporcionar un historial más detallado sobre el perfil de la exposición a la droga de un individuo. La precisión del análisis segmentario depende tanto del muestreo como del procedimiento de segmentación en el laboratorio. Además, las concentraciones de drogas en el cabello pueden disminuir desde la raíz hasta el extremo distal, a través del lavado. Durante la toma de muestra es fundamental evitar que las fibras de pelo se desalineen durante el corte. Cuando el mechón de cabello se sujeta para ser cortado forma un cono, y puede producirse el desalineado de las fibras de pelo; además, debe tenerse cuidado con el ángulo de las tijeras que se use durante el corte, ya que si es demasiado oblicuo dejará muestra residual en el cuero cabelludo. Se recomienda no recoger más de 60 fibras de pelo por mechón²⁶.

Además, el proceso de eliminación de la contaminación externa debe realizarse siempre después de la segmentación para que el mechón no se desalinee durante el mismo.

3.4.3. Eliminación de la contaminación externa

La contaminación externa se compone de una combinación de contaminantes de origen exógeno y contaminantes de origen endógeno que recubren la parte externa de la fibra pilosa. Los contaminantes exógenos engloban restos de drogas a los que se expone pasivamente el cabello en contacto con ambientes contaminados. Mientras que los contaminantes endógenos son segregados por las glándulas sebáceas y las glándulas sudoríparas, y bañan la parte externa de la fibra pilosa en formación¹⁹. La eliminación de esta contaminación externa es un paso previo a realizar antes de cualquier análisis de cabello, tanto para evitar resultados falsos positivos por la posible existencia de contaminantes exógenos, como para evitar interferencias en la interpretación de los resultados que puedan causar los contaminantes endógenos. En la práctica, no es posible diferenciar entre ambos componentes de la contaminación externa.

La eliminación de la contaminación externa se realiza mediante la aplicación de lavados sucesivos en el mechón de cabello o segmento con uno o varios disolventes durante un tiempo determinado. Además de eliminar la contaminación externa propiamente dicha, estos procesos de lavado del cabello también eliminan restos de productos cosméticos como champús, ceras, lacas, etc., que pueden interferir en la posterior determinación analítica de los compuestos de interés, al disminuir la relación señal/ruido del cromatograma obtenido²⁶.

Los disolventes orgánicos como el diclorometano y la acetona solo eliminan la contaminación superficial de la fibra de pelo, mientras que las disoluciones acuosas y el metanol también extraen parte de las drogas incorporadas en el cabello.

3.4.4. Extracción de los analitos de la matriz

El cabello es una matriz sólida y, debido a ello, las drogas que han sido incorporadas desde la sangre hacia su interior se encuentran firmemente unidas a las proteínas, a la melanina y/o a los lípidos que forman su estructura. Por ello es necesario realizar previamente al análisis un procedimiento de extracción de estos analitos de la matriz sólida, que libere las drogas y permita su análisis. El proceso de extracción incluye un primer paso de homogeneización de la muestra (pulverización del segmento hasta obtener un polvo fino maximizando la extracción de analitos debido a que de esta manera se aumenta la superficie de contacto entre el cabello y el disolvente utilizado) y un segundo paso de extracción mediante la solubilización de los analitos con un disolvente que penetre en el interior de la fibra pilosa, o mediante la digestión de la matriz del cabello. Ya que en esta investigación el analito de interés es el THC, se podrán utilizar disolventes como tampones básicos que son disoluciones a pH básicos (generalmente disoluciones acuosas de NaOH) permiten la completa digestión de la matriz sólida del cabello. Esto permite obtener una mayor recuperación de la extracción, pero no todas las sustancias son estables a pH básicos, ya que, por ejemplo, la cocaína se hidroliza espontánea y completamente. Por lo tanto, a una de las sustancias en que su aplicabilidad se ve reducida es al THC²⁶.

La solubilización suele realizarse acompañada de una extracción con ultrasonidos causando una alta degradación de la estructura del cabello y por

ello, favorece el proceso de extracción. El proceso de extracción de los analitos debe durar como mínimo 4 horas y 6 como máximo, de tal manera que se asegure la total recuperación de las sustancias de interés presentes en la muestra.

3.4.5. Análisis Instrumental

El análisis de cabello requiere el empleo de técnicas instrumentales que permitan determinar las sustancias de manera inequívoca, cuantificarlas con una adecuada precisión y exactitud, y con suficiente sensibilidad para alcanzar concentraciones en el rango del picogramo por miligramo de cabello. Por ello, la metodología de elección en el análisis cuantitativo de cabello es la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas en tándem (LC-MSMS). (Ver anexo N°1)

El empleo de la técnica de LC-MSMS es una alternativa para compuestos polares y termolábiles, sin el paso previo de la derivatización, siendo por tanto un análisis más rápido y barato. Las aplicaciones de la LC-MSMS en la Toxicología Forense han sido múltiples, desde anfetaminas, cocaína, THC, opiáceos, LSD, benzodiazepinas, neurolépticos, etc., tanto para la identificación como la cuantificación de estas sustancias. Como inconveniente, cabe destacar el alto precio de los equipos empleados de LC-MSMS por lo que no están disponibles en todos los laboratorios de Toxicología.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0. DISEÑO METODOLOGICO

4.1. Tipo de estudio

Bibliográfico: A partir de fuentes confiables que fueron utilizadas como referencias bibliográficas se obtuvo la información respecto a la identificación de THC, en cabello humano como matriz biológica, para el diagnóstico de consumo crónico de marihuana.

Documental: Este proyecto de investigación se basó en la obtención y análisis de datos provenientes de fuentes bibliográficas provenientes de bases de datos encontradas en internet que se mencionan más adelante.

4.2. Investigación bibliográfica

Se realizó la búsqueda en bases de datos disponibles en internet como lo son:

- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador, campus central
- Biblioteca Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador
- Revistas científicas
- Base de datos encontradas en internet
- Biblioteca digital de la Universidad de El Salvador y base de datos pertenecientes al sistema bibliotecario universitario.

4.3. Desarrollo

Debido a que la investigación desarrollada fue completamente de carácter bibliográfico esta se ejecutó mediante etapas, con la finalidad de seleccionar el material bibliográfico que fue de mayor utilidad para los fines de esta investigación, estas etapas fueron divididas de la siguiente manera:

- Búsqueda del material bibliográfico y análisis exhaustivo del material consultado para su selección y aprovechamiento en el trabajo de investigación.
- Seleccionar el material idóneo para la estructuración del Informe Final
- Diseño de la propuesta de Práctica de Laboratorio, con base a la guía proporcionada para su estructuración (ver Anexo N°2), dicha propuesta se trabajó como producto final del Proyecto de Investigación y se presenta a continuación en el capítulo V.

CAPITULO V
PROPUESTA DE PRACTICA DE LABORATORIO

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



PRACTICA DE LABORATORIO:

IDENTIFICACION DE Δ -9-TETRAHIDROCANNABINOL EN CABELLO
COMO MATRIZ BIOLOGICA PARA EL DIAGNOSTICO DE CONSUMO
CRONICO DE MARIHUANA



Objetivos:

- Aplicar las técnicas adecuadas para la toma de muestras y su adecuado almacenamiento.
- Realizar el retiro de contaminantes externos presentes en la muestra de cabello obtenida.
- Identificar Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC) en muestras de cabello, mediante cromatógrafo de líquidos acoplado a espectrometría de masas.
- Determinar un perfil cronológico del consumo de marihuana mediante la segmentación del mechón.

Fundamento teórico:

La principal aportación que supone la utilización del cabello en el campo de la Toxicología, frente a las matrices tradicionales, es su amplia ventana de detección, ya que las drogas, una vez incorporadas al cabello, no son eliminadas por el lavado del cabello, difícil de adulterar y, por tanto, permanecen en el interior del mismo, meses o incluso años. Consecuentemente, la ventana de detección de esta matriz biológica sólo se ve limitada por la longitud del mechón de cabello a analizar. Esta característica otorga la posibilidad de realizar estudios del patrón cronológico de consumo, es decir, conocer si el consumo disminuye, aumenta o cesa durante un período de tiempo que sólo depende de la longitud del mechón, mediante el análisis de segmentos continuos y sucesivos de cada uno de estos.

Además, la toma de muestra es sencilla, ya que no requiere personal médico para su realización, y es no invasiva, pudiendo ser fácilmente supervisada para evitar la manipulación o adulteración de la muestra. De igual manera si es necesario recoger una segunda muestra de características similares a la inicial, esta puede ser obtenida sin ningún problema de la misma persona. Por último, otra ventaja del uso del cabello

como matriz biológica es que tanto su almacenaje como su transporte se realiza de una forma sencilla, sin necesidad de ninguna medida de conservación especial.

La Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría, ofrece una poderosa técnica analítica que combina la cromatografía (de líquidos) como técnica de separación, y la espectrometría de masas como técnica de detección, identificación y cuantificación para compuestos orgánicos/organometálicos. La Espectrometría de Masas es una potente técnica instrumental de análisis, de alta sensibilidad, basada en la ionización de las moléculas y en la separación y registro de los iones producidos según su relación masa/carga (m/z) en un sistema a vacío. Los iones que llegan al detector producen una señal eléctrica que es ampliada, procesada y registrada en un ordenador, dando lugar al correspondiente espectro de masas que no es más que una representación gráfica de la abundancia de los iones detectados en función de su relación m/z .

Esta técnica puede aplicarse tanto al análisis cualitativo como al análisis cuantitativo de una muestra, siendo especialmente potente cuando se acopla a una técnica de separación previa como es la cromatográfica. Las moléculas presentes de un analito deben ser analizadas según sus cargas, en donde inicialmente la muestra se calienta, es vaporizada (mediante el uso de cámara de alto vacío) para obtener así los iones del analito en fase gaseosa (ionización), seguidamente es bombardeada con electrones para cargar las moléculas mediante la pérdida de un electrón de los átomos, por un acelerador de iones y pasan por un tubo curvo, entran a un campo magnético, que determina la trayectoria de los iones ya que los iones con carga son desviados y separados en función de su relación masa/carga (m/z) mediante la aplicación de campos eléctricos, magnéticos. Si la masa del ion es más grande la velocidad del paso por el tubo es menor; así que los iones más pequeños llegarán más rápido al detector (ver figura N°1), en el cual los iones que pasen por el detector producen una señal eléctrica que

es enviada a un ordenador generando así un gráfico (picos cromatográficos) permitiendo así analizar el compuesto mediante los patrones de fragmentación y sus relaciones m/z apropiadas cuantificando al analito.

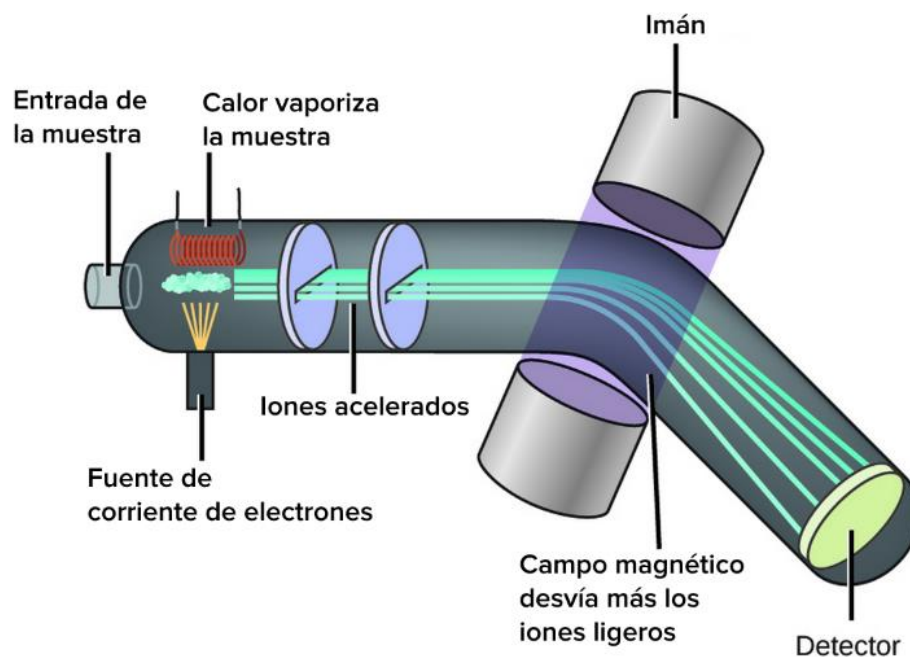


Figura N°1. Proceso de muestra dentro del equipo espectrómetro de masas

En lo que respecta al análisis cuantitativo, la intensidad iónica detectada se puede correlacionar con la cantidad de sustancia presente en la muestra, aunque para llevar a cabo una cuantificación absoluta de calidad es necesario disponer de patrones de referencia y llevar a cabo una separación cromatográfica previa.

La segmentación del mechón proporciona mayor información sobre el perfil de consumo. El análisis por segmentos implica efectuar una toma de muestra adecuada, siguiendo los criterios previamente señalados para ello, resaltando la importancia de alinear correctamente las fibras de cabello durante la toma de muestra e indicar la zona más próxima al cuero cabelludo, para diferenciar la zona proximal de la zona distal del mechón.

Equipo, materiales y reactivos:

- Equipos:

Sistema de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MSMS)

Incubadora

Cámara de gases

Sistema de extracción líquido-líquido

Centrifugadora

Balanza analítica digital

- Materiales:

Equipo de protección personal

Tijeras de cabello

Regla

Pulverizador

Cuadernos de notas y marcadores

Pipetas

Micropipetas

Beakers

- Reactivos:

Metanol grado HPLC

Hexano grado HPLC

Diclorometano AR

Agua grado HPLC

Acetato de etilo AR

Conocimientos previos:

El estudiante debe poseer conocimientos previos sobre análisis instrumental, uso de LC-MSMS, sobre extracción líquido-líquido y sobre buenas prácticas de laboratorio

Nota: Dicha práctica de laboratorio podrá ser aplicada solamente en personas con cabello largo (longitud de mechón mínimo de 5cm) independientemente del género, debido a que se necesita cierta longitud mínima de muestra, para cumplir con el objetivo de determinar el perfil de consumo crónico de la droga de abuso mediante la segmentación del mechón.

De forma general:

1. Recogida de la muestra y almacenamiento.
2. Segmentación del mechón.
3. Eliminación de la contaminación externa del mechón.
4. Extracción de los analitos de la matriz.
5. Análisis instrumental.

Toma de muestra:

El mechón debe ser cortado lo más cerca posible al cuero cabelludo y se debe de tomar aproximadamente 1cm de mechón por cada muestra. Introducir la muestra en un sobre de papel e identificarla correctamente, el cabello no requiere condiciones especiales de almacenamiento. Las muestras deben ser conservadas a temperatura ambiente, en un lugar seco y oscuro, evitando la luz directa del sol. Es recomendable recoger una segunda muestra de cabello y analizarla cuando los resultados de la primera son positivos, para corroborar el resultado del primer análisis.

Pre-tratamiento de la muestra:

- La eliminación de la contaminación externa se realiza mediante la aplicación de lavados sucesivos en el mechón de cabello, estos procesos de lavado del cabello eliminan restos de productos cosméticos que pueden interferir en la determinación analítica del compuesto en interés. Este proceso se debe realizar con 2 mL de diclorometano por 2 minutos, realizando 3 lavados consecutivos.

- Se procede a descontaminar la muestra de cabello mediante el secado a 70°C por 40 minutos.
- Se debe realizar una segmentación del mechón de aproximadamente 2-3cm de longitud para poder determinar el consumo habitual o crónico del THC debido a que en los diferentes segmentos del mechón se deberán encontrar diferentes concentraciones del analito de interés conociéndose el crecimiento habitual que tiene el cabello.
- Cuando la muestra ya esté seca y segmentada se procede a pulverizar para facilitar el proceso de extracción posterior, dejando de tal manera una superficie lo más grande posible para la penetración del solvente. Se debe de tener cuidado para no perder parte de la muestra en este proceso.
- Se deben de obtener 50mg de muestra por segmento para poder realizar las determinaciones.

Extracción de THC de las muestras de cabello:

- El objetivo de este procedimiento es extraer selectivamente y cuantitativamente el analito de interés del cabello sin modificarlo químicamente.
- Añadir 1mL de metanol a la muestra a 40°C por 16 horas. Este mecanismo de extracción prevé que el metanol hidrofílico penetre en el cabello, provocando el hinchamiento y la liberación de la sustancia por difusión y la disolución de compuestos neutros y lipofílicos.
- Puede existir un alto grado de contaminación de la matriz del cabello, por lo que se recomienda un paso de purificación adicional, realizando una extracción líquido-líquido.
- La extracción líquido-líquido se llevará a cabo con 4 mL de hexano:etilacetato (90:10, v:v), la muestra se centrifuga durante 15 minutos (4000rpm, 4°C) y la fase orgánica se recoge y se evapora a sequedad con nitrógeno a 35°C. El sobrenadante se reconstituye con 20 µL de metanol y se procede a cargar la muestra en el equipo.

(Condiciones: Columna XTerra MS C18 (2.1x100mm, 3.5 μ m) a 26°C, eluida en modo isocrático utilizando ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo (15:85), y administrado a un caudal de 0.25 ml/min).²

Recolección de resultados:

Se deberá recolectar los resultados por cada 2-3cm de longitud de cabello (comenzando los segmentos de la raíz a puntas), obteniéndose una lectura del equipo por cada segmento del mechón, y la cantidad de estos dependerá de la longitud del mismo. Para la recolección de estos datos se propone un cuadro para poder establecer el perfil cronológico del consumo de THC de la persona de la que se obtuvo la muestra.

Cuadro N°1. Recolección de datos

Lectura de mechón de cabello para la identificación de THC	
Sección del mechón	Lectura de equipo en (m/z)
Segmento #1 de 2cm	
Segmento #2 de 2cm	
Segmento #3 de 2cm	
Segmento #4 de 2cm	
Segmento #5 de 2cm	
Segmento #6 de 2cm	
Segmento #7 de 2cm	
Segmento #8 de 2cm	
Segmento #9 de 2cm	

Referencias Bibliográficas:

1. Guisán C. M.. Aplicación de la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas simple y en tandem a la determinación de derivados anfetamínicos y otras drogas de abuso en medio biológico. [Internet]. 2006. [Consultado 11 de agosto de 2022] Disponible en: <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/9522>
2. Lendoiro E. et al. Target screening and confirmation of 35 licit and illicit drugs and metabolites in hair by LC-MSMS. [Internet]. 2011. Forensic Science International 207–215. [Consultado 20 de julio de 2022] Disponible en :file:///C:/Users/Raul/Downloads/Target_screening_and_confirmation_of_35.pdf
3. S. Vogliardi, et al., Sample preparation methods for determination of drugs of abuse in hair samples: A review, Anal. Chim. Acta (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2014.06.053>

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0. CONCLUSIONES

1. El estudio realizado beneficiará la asignatura de Química Forense y Toxicología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, para innovar en las metodologías de análisis realizadas utilizando equipos más actualizados dentro del campo laboral.
2. El cabello es la matriz biológica de elección cuando se trata de diagnosticar una drogadicción crónica o en un tiempo anterior, cuando se requiere conocer el perfil cronológico del consumo de drogas o se trata de estimar el grado de asiduidad en el consumo.
3. El uso de cabello como matriz biológica es una excelente opción por sus amplios beneficios que presenta al momento de obtener de manera más sencilla y menos invasiva la muestra, sin requerir de condiciones especiales de almacenamiento.
4. Los tratamientos cosméticos realizados en el cabello pueden inducir a cambios en las concentraciones de las drogas presentes, repercutiendo en la interpretación de los resultados.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0. RECOMENDACIONES

1. A la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador que en un futuro participe de proyectos en los que se pueda gestionar la adquisición de equipos que permitan mejorar así la sensibilidad y la calidad de los análisis.
2. A la coordinación del Curso de Especialización de la Facultad de Química y Farmacia, considerar futuros proyectos de investigación en los que se implemente un método de identificación en la matriz biológica de cabello para el diagnóstico de otro tipo de droga de abuso.
3. A futuros investigadores es necesaria la validación del método previo a la implementación en el laboratorio para poder obtener resultados confiables, evitando de esta manera obtener falsos positivos en la determinación de THC en muestras de cabello.
4. A los lectores que tengan interés en investigar más sobre el tema llevándolo a la práctica y poder demostrar analíticamente la sensibilidad del método propuesto.

BIBLIOGRAFIA

1. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC), Informe Mundial sobre las Drogas 2021, junio 2021. [Internet] 2021 [Consultado 2 de mayo de 2022] Disponible: https://www.unodc.org/mexicoandcentralamerica/es/webstories/2020/2021_06_24_informe-mundial-sobre-las-drogas-2021-de-unodc_-los-efectos-de-la-pandemiaaumentan-los-riesgos-de-las-drogas--mientras-la-juventud-subestima-los-peligrosdel-cannabis.html.
2. Comité de expertos de la OMS en farmacodependencia. Serie de informes técnicos Organización Mundial de la Salud, [Internet] Ginebra, 2003 [Consultado 16 de mayo de 2022] No. 915-33º. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4898s/>.
3. López, G., Brindis, F., Niizawa, S., Martínez, R., *Cannabis sativa* L., una planta singular. Rev Mex Cienc Farm [Internet]. 2014 [Consultado 16 de mayo de 2022]; 45 (4). Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v45n4/v45n4a4.pdf>.
4. Missouri Botanical Garden. *Cannabis sativa* L. [Internet]. 2013. [Consultado 16 de mayo de 2022] Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/21302042>.
5. Conabio. Ficha informativa. *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). Marihuana, cáñamo. [Internet]. [Consultado 17 de mayo de 2022] Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/cannabaceae/cannabis-sativa/fichas/ficha.htm>.
6. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito. Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis, [Internet] 2010 [Consultado 16 de mayo de

2022], 8, Revisado y actualizado. Disponible en: https://www.unodc.org/documents/scientific/Cannabis_manual-Sp.pdf.

7. Atakan Z., Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Ther Adv Psychopharmacol*. [Internet]. 2012 [Consultado 04 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2045125312457586>
8. Mechoulam R., Devane W.A., Glaser R., Cannabinoid geometry and biological activity. En *Marihuana/Cannabinoids: Neurobiology and Neurophysiology*, vol IV. [Internet]. 1992 [Consultado 06 de mayo de 2022]. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59259-710-9_9
9. Ramos Atance, J.A., Fernández Ruiz, J. Monografía Cannabis, adicciones. [Internet]. 2000 [Consultado 05 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.seguridad.gob.sv/cna/wp-content/uploads/2018/04/Monografia-Cannabis.pdf>.
10. Hunt C.A., Jones R.T., Herning R.I., Bachman J., Evidence that cannabidiol does not significantly alter the pharmacokinetics of tetrahydrocannabinol in man. *J. Pharmacok. Biopharm*. [Internet]. 1981 [Consultado 11 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6270295/>
11. Agurell S., Carlsson S., Lindgren J.E., Ohlsson A., Gillespie H., Hollister L., Interactions of 1-tetrahydrocannabinol with cannabiniol and cannabidiol following oral administration in man. Assay of cannabiniol and cannabidiol by mass fragmentography. [Internet]. 1981 [Consultado 13 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6273208/>
12. Williams P.L., Moffat A.C., Identification in human urine of d9-tetrahydrocannabinol-11-oic acid glucuronide: a tetrahydrocannabinol

metabolite. *J. Pharm. Pharmacol.* [Internet]. 1980 [Consultado 17 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6105177/>

13. Organización Panamericana de la Salud, Epidemiología del uso de drogas en América Latina y el Caribe. [Internet]. 2009 [Consultado 17 de mayo de 2022]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2009/epidemiologia_drogas_web.pdf.
14. Budney, A. J., Moore, B. A., Rocha, H. L., & Higgins, S. T. Clinical trial of abstinence-based vouchers and cognitive-behavioral therapy for cannabis dependence. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, [Internet]. 2006 [Consultado 17 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1037/0022-006X.74.2.307>.
15. Olivera G. Una mirada sobre los consumos de drogas desde la perspectiva de género. En: Junta Nacional de Drogas. Desvelando velos sobre género y drogas: aspectos teórico-metodológicos y buenas prácticas de abordaje del uso problemático de drogas desde distintas perspectivas de género. 2 ed. Montevideo: Junta Nacional de Drogas. [Internet]. 2012 [Consultado 20 de mayo de 2022]. Disponible en: https://www.gub.uy/junta-nacional-drogas/sites/junta-nacional-drogas/files/documentos/publicaciones/desvelando_velos.pdf
16. Fundación Instituto Catalá de Farmacología. Uso terapéutico del cannabis: Farmacología básica. Barcelona FICF, [Internet]. 2007 [Consultado 15 de mayo de 2022]. Disponible en: <http://w3.icf.uab.es/ficf/es/bin/view/Cannabis/FarmacologiaBasica>.
17. Fine J. Reproductive and perinatal principles. En: Hoffman R, Howland M, Lewin N, Nelson L, Goldfrank L, eds. *Goldfrank's toxicologic emergencies*. 10 ed. New York: McGrawHill. [Internet]. 2015 [Consultado 20 de mayo de 2022]. Disponible en:

<https://copharm.uobaghdad.edu.iq/wp-content/uploads/sites/6/2020/09/Goldfrank%E2%80%99s-Toxicologic-Emergencies-9th-Edition.pdf>

18. Anderson P. Cannabis and breastfeeding. *Breastfeed Med.*; 12(10):580-1. [Internet]. 2017 [Consultado 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/bfm.2017.0162?download=true>
19. Cooper GAA, Kronstrand R, Kintz P. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic Sci Int.* [Internet]. 2012 [Consultado 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073811004993?via%3Dihub>
20. Gallardo E, Queiroz JA. The role of alternative specimens in toxicological analysis. *Biomed Chromatogr.* [Internet]. 2008 [Consultado 15 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.1009>
21. Laboratorio de toxicología y química legal [Internet], Argentina, Perkins de Piacentino, A.M; Locani, O.A; Lorenzo, J.L.; [Consultado el 21 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.ama-med.org.ar/images/uploads/files/Drogas%20en%20pelo%20l.pdf>
22. Balikova, M. Hair analysis for drugs of abuse. Plausibility of interpretation. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* [Internet]. 2005 [Consultado 18 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/f41b/449bbe1aef080593d0629c5140aa21bbe141.pdf>

23. Cairns T, Kippenberger DJ, Gordon AM. Hair analysis for detection of drugs of abuse. En: Wong SHY, Sunshine I (eds.) Handbook of Analytical Therapeutic Drug Monitoring and Toxicology. Boca Ratón. [Internet]. 1996 [Consultado 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://vdoc.pub/documents/workplace-drug-testing-3r1hcph67aqq>
24. Rapaka R. Membranes and Barriers: Targeted Drug Delivery. Monografía National Institute on Drug of Abuse. [Internet] 1995. [Consultado 19 de mayo de 2022] Disponible en: <https://archives.drugabuse.gov/pdf/monographs/154.pdf>.
25. Kronstrand R, Scott K. Drug incorporation into hair. En: Kintz P (ed.) Analytical and Practical Aspects of Drug Testing in Hair. Boca Ratón, EEUU: Taylor and Francis. [Internet]. 2007 [Consultado 19 de mayo de 2022] Disponible en: <https://www.ojp.gov/pdffiles1/nij/grants/225531.pdf>
26. Belío Lendoiro, E., El pelo como matriz biológica alternativa y su uso en la determinación de la exposición intraútero a drogas ilícitas y fármacos. Tesis Doctoral. [Internet]. 2015 [Consultado 15 de mayo de 2022] Disponible en: <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/13>

ANEXOS

ANEXO N°1



Figura N°5 Cromatógrafo líquido acoplado a espectrometría de masas.²⁶

ANEXO N°2
ESTRUCTURA DE LA PRACTICA DE LABORATORIO

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

**CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
“ANÁLISIS QUÍMICO APLICADO A LA INVESTIGACIÓN CRIMINAL”
ESTRUCTURA DE LA PRÁCTICA DE LABORATORIO**

El presente documento establece el contenido a ser considerado para la estructuración de la propuesta de práctica de laboratorio, que presentarán los egresados al concluir el Curso de Especialización y contendrá los siguientes apartados:

Portada:

Nombre de la Facultad (Centrado)

Nombre de la Práctica (Centrado)

Imagen alusiva a la temática (Centrado)

Objetivos:

Establecer un mínimo de tres Objetivos, no es necesario diferenciar entre objetivo general y específicos.

Fundamento Teórico:

Deberá incluirse el fundamento químico, puede incluirse reacciones químicas que ayuden a la comprensión del tema.

Equipo, Materiales y Reactivos:

Debe desglosarse cada uno de estos requerimientos para el desarrollo de la práctica.

En cuanto del equipo deben ser incluidas las especificaciones.

Los materiales deben ser detallados, de igual manera se deberán incluir las especificaciones.

Los reactivos, deben detallarse los que se utilizarán en estado puro y los preparados, incluyendo información como concentraciones, en caso de ser necesario.

Conocimientos Previos:

Plasmar cualquier conocimiento previo que sea necesario para que el estudiante comprenda de manera íntegra la práctica que va a desarrollar y que no se contempla en el fundamento teórico.

Procedimiento:

Deberá ser presentado paso a paso de manera secuencial, podrá incluir un esquema que permita visualizar mejor el proceso.

Referencias Bibliográficas:

De acuerdo a Normas VANCOUVER

Anexos:

Principalmente los que complementen al apartado de Equipo, Materiales y Reactivos; para este último se deberá incluir la forma de preparación de aquellos que no se utilicen en forma pura.

La práctica diseñada, constituirá un capítulo del informe final, como producto de haber concluido el Curso de Especialización, como modalidad de trabajo de grado.