

## CINÉTICA DEL ETANOL

El Etanol posee una sencilla estructura molecular, un punto de ebullición de 78.4°C y una densidad de 0.79 g/cm<sup>3</sup>, es muy soluble en agua y atraviesa fácilmente las membranas biológicas por difusión pasiva.

Del total del alcohol ingerido, entre un 20% y un 30% se absorben a nivel del estómago, el remanente en el intestino delgado.

La velocidad de absorción y la concentración máxima es función de múltiples variables, a saber:

- Lapso de tiempo en el que opera el vaciamiento gástrico
- Graduación alcohólica y tipo de bebida
- Volumen consumido, N° de libaciones e intervalos interdosis
- Presencia o ausencia de alimentos (plenitud o vacuidad gástrica)
- Flujo sanguíneo en el sitio de absorción

La absorción del etanol en el duodeno y en el yeyuno es mucho más rápida que en el estómago, por lo que la velocidad de vaciamiento gástrico es un factor determinante en la velocidad de absorción del etanol administrado por vía oral.

El etanol atraviesa membranas biológicas mediante difusión pasiva, según su gradiente de concentración. Por lo tanto, cuanto mayor es la concentración de etanol, mayor es el gradiente de concentración resultante y más rápida es la absorción.

Pero también debe considerarse que el etanol tiene propiedades irritantes y las concentraciones significativamente altas pueden causar erosiones superficiales, afectar la musculatura lisa de la pared estomacal, generar espasmos a nivel pilórico, todo ello retrasa el vaciamiento gástrico hacia duodeno y, por ende, la velocidad de absorción del tóxico.

La concentración sanguínea de etanol que se alcanza cuando se administra una dosis determinada en una sola toma, es superior a los niveles que se alcanzan cuando esa dosis de carga se fracciona en varias tomas. Entre otros factores esto es consecuencia de que en una dosis única el gradiente de concentración que tiene lugar en los sitios de absorción es mayor y por otro lado es muy probable que una dosis única sature las rutas de biotransformación, circunstancia que condiciona un mayor período de eliminación.

En estado de plenitud o repleción gástrica, disminuye la cantidad de etanol absorbido por unidad de tiempo. A estómago lleno el vaciamiento hacia el

intestino delgado se retrasa y la concentración sanguínea máxima puede ser entre un 15% y un 40% menor que en condiciones de vacuidad gástrica.

La eliminación rápida del etanol desde el sitio de absorción, mediante un flujo sanguíneo eficaz, ayudará a mantener el gradiente de concentración y así favorecerá la absorción.

### **OXIDACIÓN GÁSTRICA**

Existe un primer paso metabólico para el etanol a través de la enzima Alcohol Deshidrogenasa gástrica (ADH-g), capaz de oxidar en condiciones normales hasta un 20% del alcohol ingerido.

La eficacia de esta acción enzimática durante el ayuno baja sensiblemente respecto al estado de plenitud gástrica, atribuido entre otros factores, al vaciamiento gástrico acelerado (que reduce el tiempo de contacto con la ADH-g y condiciona un mayor ingreso de etanol para su absorción a nivel intestinal).

La actividad de la enzima ADH-g es menor en mujeres, por lo cual, frente a una misma dosis de etanol, en la mujer se evidencian concentraciones plasmáticas mayores.

### **DIFUSIÓN y DISTRIBUCIÓN**

La misma dosis de etanol por unidad de peso corporal puede producir concentraciones sanguíneas de etanol muy diferentes en individuos diferentes, debido a las grandes variaciones en las proporciones de grasa y agua de sus cuerpos y el bajo coeficiente de partición de lípidos:agua que presenta el etanol.

Un factor importante es el tenor de agua corporal. Las mujeres generalmente presentan un volumen de distribución más bajo que los hombres debido a su mayor porcentaje de grasa corporal (el tejido graso tiene un bajo porcentual de agua), es decir un menor tenor de agua.

Esto determina que las alcoholemias sean más altas al diluirse el etanol en menor volumen de agua. El volumen de distribución promedio va disminuyendo con la edad, en función de la disminución del porcentaje de agua corporal total.

La concentración de equilibrio del etanol en un tejido depende del contenido relativo de agua de ese tejido.

El etanol es prácticamente insoluble en grasas y aceites, aunque, como el agua, puede atravesar rápidamente las membranas biológicas.

El etanol se distribuye desde la sangre a todos los tejidos y fluidos, en proporción a su contenido relativo de agua.

No existen proteínas plasmáticas transportadoras de etanol.

La misma dosis de etanol por unidad de peso corporal puede producir concentraciones sanguíneas de etanol muy diferentes en individuos diferentes, debido a las grandes variaciones en las proporciones de grasa y agua de sus cuerpos y el bajo coeficiente de partición de lípidos:agua del etanol.

### **Matrices biológicas para determinación de etanol. Toma de muestras**

La toma de muestra es uno de los factores con mayor incidencia a la hora de la confiabilidad de los resultados obtenidos en los ensayos analíticos. La no observancia de los protocolos validados para la obtención de cada tipo de muestra es fuerte condicionante de errores e incertidumbre en los resultados, tanto en términos cualitativos como cuantitativos.

#### **Sangre**

##### **1.- Individuo vivo (in vivo)**

In vivo, la extracción se practica mediante punción con jeringa y aguja estériles de venas periféricas teniendo la precaución de **No desinfectar previamente el sitio de punción con alcohol**, debe utilizarse para la desinfección soluciones de cloruro mercúrico al 0,5 % o solución jabonosa.

La muestra hemática debe depositarse en un frasco rigurosamente limpio y herméticamente cerrado, evitando la existencia de cámara de aire. El preservante de elección es el fluoruro de sodio (NaF) que se agregará a la muestra en una concentración mínima 1% que puede llegar al 2% (p/v).

La muestra debe conservarse refrigerada entre 0 y 4 °C hasta 14 días sin pérdidas significativas de etanol.

Si bien el volumen de muestra a extraer está condicionado al método de ensayo que se practique, teniendo en cuenta que siempre debe preservarse una fracción de la muestra extraída para eventuales repeticiones del análisis, así como para eventuales contrapericias requeridas por las autoridades judiciales, en sujetos vivos deberían extraerse unos 10 ml y en casos postmortem la totalidad del volumen que se pueda rescatar.

## 2.- Extracción de Sangre postmortem

Post mortem, la sangre debería extraerse de venas externas al tracto gastrointestinal, como la vena femoral. También suele recurrirse a la extracción por punción intracardiaca, no obstante, debe tenerse en cuenta que el etanol puede difundir pasivamente desde el estómago a la sangre cardiaca por lo que la sangre tomada de las cavidades cardiacas podría arrojar valores de alcoholemia superiores a los que en realidad tenía el individuo al momento de ocurridos los hechos.

Estas situaciones se evitan si el procedimiento de autopsia se practica dentro de las 24 - 48 hs en donde la muestra de sangre es perfectamente apta para determinar el estado del paciente al momento de la muerte.

Para el caso de autopsias tardías, se han estudiado los índices de correlación entre las concentraciones de etanol en distintos tejidos y líquidos orgánicos y la concentración de alcohol en sangre en el momento de la muerte. De éstos estudios y conocidos estos índices de correlación, surge la importancia del dosaje de alcohol tanto en sangre como en fluidos biológicos que no se contaminan tan rápidamente como la sangre, tales como:

- **humor vítreo**
- **bilis – líquido cefalorraquídeo**

El valor de concentración de etanol obtenido en sangre y –por ejemplo- en humor vítreo permitirá establecer si la relación de concentraciones es compatible con el índice de correlación estadístico o se encuentran desviaciones por contaminación.

## ORINA

Otra muestra simple que puede disponerse es la **orina** y se colecta en individuos vivos por micción espontánea en recipientes colectores de orina de boca ancha y cierre a rosca hermético.

La muestra para casos postmortem se toma punzando la vejiga con una jeringa estéril. En caso de encontrarse la vejiga vacía intentar obtener 10 ml de orina por punción de la pelvis renal. N

En ambos casos no se adicionan conservantes, se conservan las muestras refrigeradas a 4 °C.

Inmediatamente después de la recolección en individuos vivos, para descartar que se haya adulterado la muestra, se efectúa la medición del valor de pH, la determinación de creatinina (180±80 mg/dl: normal; 10-30mg/dl: probablemente esta diluida; 10mg/dl: diluida) y la determinación de la densidad relativa (1.002-1.020: normal).

También se utiliza como método portátil de detección del alcohol el **aire espirado**. Se basa en que a partir de los quince minutos luego de haber ingerido una bebida alcohólica, la concentración de etanol en el aire espirado refleja la concentración alcohólica de la sangre arterial. El método es interferido por los restos de alcohol recientemente ingerido o por los vómitos de alcohol.

### **Humor vítreo**

De aplicación sólo en casos postmortem.

Se extrae la totalidad del humor vítreo a través de la punción del globo ocular con aguja y jeringa (cabe acotar que muchas veces se remite humor acuoso y no humor vítreo, ya que la mayor densidad de este último hace dificultosa la extracción). Colocar en viales de capacidad adecuada y conservar refrigerado hasta su ingreso al laboratorio.

El índice de correlación concentración de etanol Humor Vítreo/ Sangre es del orden del 0,95.

### EFFECTOS AGUDOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO

El alcohol etílico es un tóxico que actúa como depresor del Sistema Nervioso Central. Es creencia popular que el alcohol a bajas dosis es un estimulante pues aumenta la actividad del sujeto. Esta opinión es muy errónea ya que es un depresor y especialmente de los centros superiores inhibidores (Sistema Límbico). La parálisis de la inhibición da como resultado la liberación del tono emocional, comportándose el individuo en forma infantil, con menos sentido crítico y sensación de euforia.

La sintomatología de la intoxicación aguda (**ebriedad**) se puede relacionar con las concentraciones de alcohol en sangre (**alcoholemia**) sobre la base de signos y síntomas que presentan la mayoría de los individuos en cada rango de concentraciones, como queda explicitado en la tabla que se anexa:

<b>ALCOHOLEMIA</b>	<b>ESTADO</b>	<b>SIGNOS Y SÍNTOMAS</b>
<b>Entre 0,10 a 0,50 gramos/litro</b>	Periodo subclínico	Comportamiento normal. Sin signos aparentes, sólo en test especiales: prolongación en los tiempos de respuesta a estímulos, alteración motricidad fina.
<b>0,50 – 1,50 gramos/litro</b>	Intoxicación leve	Euforia, verbosidad y excitación, sobrevaloración de las capacidades personales.  Enlentecimiento del tiempo de reacción psicomotriz. Dificultad para mantener la postura. Alteraciones visuales (adaptación visual nocturna, apreciación de distancias, disminución del campo visual)
<b>1,50 – 3,00 gramos/litro</b>	Intoxicación moderada	Trastornos de la memoria, confusión, ataxia, trastornos del habla, incoordinación muscular, alteración del equilibrio. Diplopía. Agresividad y pérdida del control.
<b>3,00 – 4,00 gramos/litro</b>	Intoxicación severa	Estupor. Déficit motor. Apatía vómitos, relajación de esfínteres, disminución severa del estado de conciencia, sueño profundo. Posible coma alcohólico!!

## **Métodos analíticos comúnmente utilizados en la investigación de etanol**

El análisis cuali-cuantitativo de alcohol etílico en sangre constituye en la actualidad una de las prácticas más utilizadas en el ámbito de laboratorios forenses alrededor del mundo.

Entre los métodos más tradicionales merece citarse la microdifusión con posterior valoración espectrofotométrica. Los resultados de los ensayos de alcoholemia por esta vía se informan en términos de “presencia o ausencia de sustancias reductoras volátiles totales”, previamente establecidos los límites de detección y de cuantificación.

La cromatografía gaseosa, con detector de ionización de llama en su variante técnica denominada espacio-cabeza (head space), resulta hoy el método más apropiado para la valoración de etanol en fluidos biológicos.

La sangre entera es la matriz más utilizada en laboratorios forenses en nuestro medio. Se complementa con análisis de alcoholuria (alcohol en orina) y análisis de humor vítreo.

Este método, muy sensible, versátil, de excelente precisión y exactitud, es el más utilizado en el mundo.

Las aplicaciones más corrientes las constituyen la medición de la alcoholemia en el instante de la toma de muestra o bien ***la determinación de la alcoholemia retrospectiva, que permite el cálculo del nivel de impregnación de alcohol “n” horas o minutos anteriores a la toma de muestra.***

## **Curvas de absorción-eliminación de etanol en sangre**

### **ELIMINACIÓN**

De un 5 a un 10 % del etanol es eliminado como tal fundamentalmente por orina, respiración y en menor medida por saliva, sudor y leche materna. Los túbulos renales no reabsorben el etanol por lo tanto las variaciones de tasas en sangre y orina son paralelas, con un cociente alcoholuria/alcoholemia promedio de 1,25. La vía pulmonar de eliminación representa sólo un 2 -3 % del total ingerido.

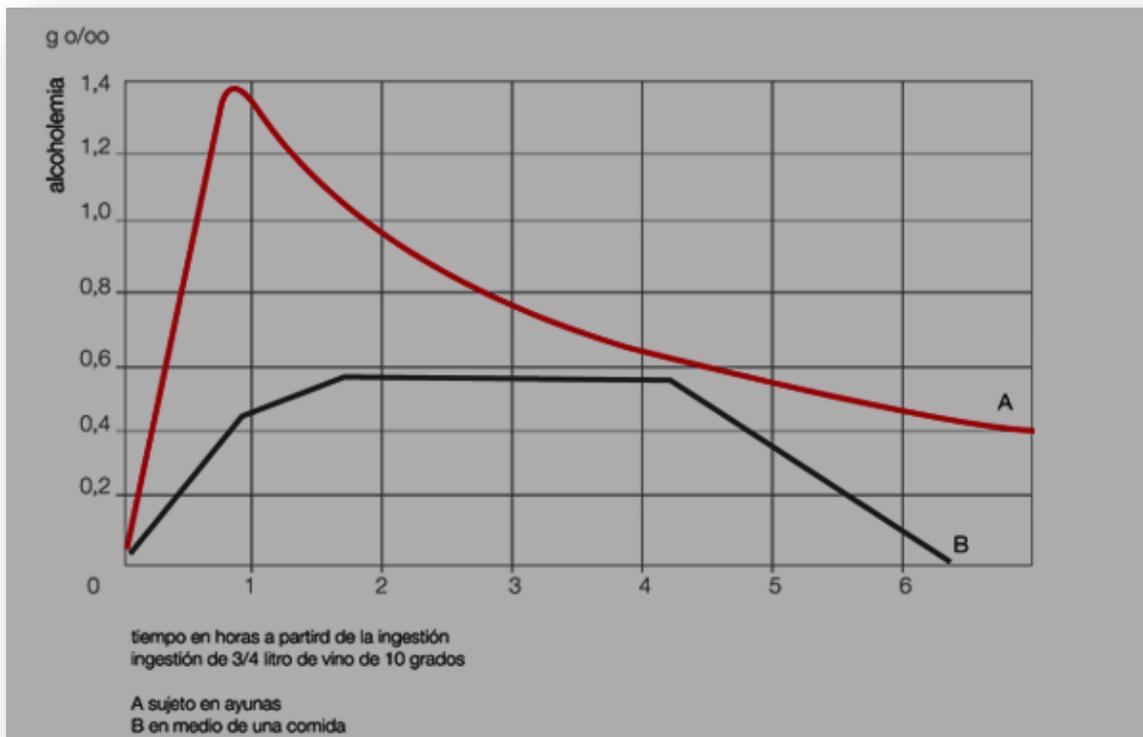
La mayoría de la carga de etanol es metabolizada en el organismo a nivel hepático por las enzimas: Alcoholdehidrogenasa y Aldehído dehidrogenasa.

La biotransformación del etanol opera a una velocidad constante, lenta e independientemente de la concentración sanguínea.

El coeficiente de Etiloxidación (constante  $\beta$  de Widmark) expresa la cantidad de alcohol eliminado de sangre por unidad de tiempo (minutos u horas) y por kilogramo de peso en un sujeto dado, cualquiera sea su concentración en sangre.

El Coeficiente de Etil Oxidación calculado por Widmark es de 0.15 gramos de alcohol por litro de sangre y por hora

El siguiente gráfico ilustra una curva típica de absorción - eliminación, mediante las determinaciones de los niveles de etanol en sangre (alcoholemia) a distintos tiempos a partir de la ingesta de una dosis única de bebida alcohólica, en dos condiciones fisiológicas: vacuidad gástrica y plenitud gástrica:



Si a un adulto de talla y peso medio, en buen estado de salud, que se halla en ayunas (estómago vacío), se le da a beber una dosis única de alcohol (por ejemplo, 3/4 de vino de 10°), la concentración máxima de alcohol en sangre se alcanzará entre los 45 y 60 minutos que siguen a la ingestión en cuyo lapso se habrá completado la absorción. De allí en más, fundamentalmente por el proceso de oxidación, la concentración sanguínea descenderá en forma lineal hasta la total desaparición del alcohol lo cual se logrará al cabo de más de 8 horas. Su representación gráfica da lugar a una **curva tipo "A"**.

Las curvas de alcoholemia "A" y "B" son categóricas porque ponen en evidencia la significativa diferencia que existe cuando un individuo bebe alcohol con el estómago ocupado o vacío. Los valores hallados en uno y otro caso muestran claramente que la concentración de alcohol en sangre se duplica (o un valor mayor aún) si se ha bebido en ayunas. Se reconocen tres fases en la curva de ALCOHOLEMIA:

- Una fase de absorción (tramo ascendente de las curvas)
- Una fase de equilibrio de difusión (pico o meseta)
- Una fase de eliminación (tramo descendente de las curvas). Este segmento descendente es lineal lo que implica una uniformidad en la desaparición del alcohol en sangre, es decir una velocidad de metabolización constante independiente de la cantidad de alcohol ingerida y del alcohol existente en sangre.

### CALCULO RETROSPECTIVO DE ALCOHOLEMIA

Cuando la investigación de alcohol se realiza un tiempo después de haber tenido un accidente, una agresión, etc.; interesa conocer la alcoholemia que presentaba el sujeto en el momento de los hechos.

Para ello se aplica la siguiente ecuación que define a la fase de eliminación del etanol como una recta:

$$C_t = C_m + \beta \cdot t$$

$\beta$ : es el denominado “**Coficiente de WIDMARK**” característico de cada individuo, con fines estadísticos se considera un valor promedio poblacional de *0,150 gramos por litro de sangre por hora*. En los alcohólicos crónicos éste valor puede llegar hasta 0,27 g/l.h.

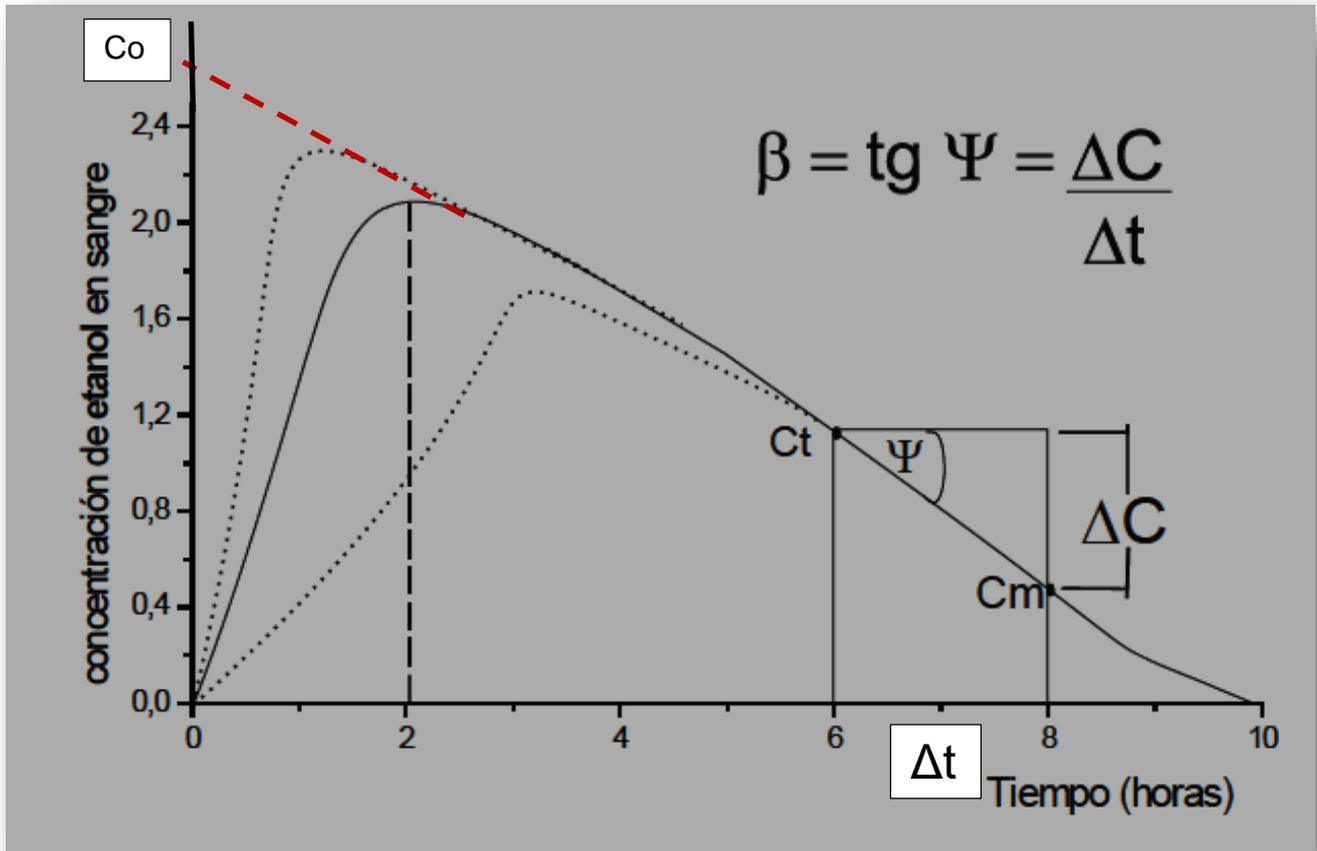
Si analizamos el gráfico que ilustra una curva típica de absorción - eliminación, (curva que se obtiene mediante sucesivas determinaciones de la concentración de etanol en sangre a distintos tiempos transcurridos desde el acto de ingesta), vemos que:

1.- Prolongando hacia atrás la línea correspondiente a la eliminación (línea punteada en color rojo) hasta cortar el eje de ordenadas, obtendremos el valor  $C_0$ , correspondiente a la alcoholemia máxima teórica, suponiendo absorción inmediata y total de toda la dosis de Etanol.

Experimentalmente se comprueba que la relación Dosis/ $C_0$  es aproximadamente 0.7 para hombres y 0.6 para mujer, debido a la desigual distribución del etanol en los diferentes tejidos corporales. ***Esta relación Dosis/ $C_0$  se define como Volumen de Distribución.***

El coeficiente  $\beta$  (en el gráfico) puede obtenerse mediante la relación:  $\Delta C / \Delta t$ , es decir:

$$\beta = \Delta C / \Delta t$$



En el gráfico  $\Delta t = 2$  horas

Si observamos la curva de eliminación podemos aplicar el concepto geométrico de la tangente del ángulo  $\psi$  (cateto opuesto / cateto adyacente) es decir:

$$\frac{C_t - C_m}{t_2 - t_1} = \text{tg } \psi = \beta$$

Despejando:  
 $C_t = C_m + \beta \cdot t$

Siendo:

$C_t$ : alcoholemia en el momento del hecho (en gramos/litro)

$C_m$ : alcoholemia en el momento de la toma de muestra (gramos/litro)

t: tiempo transcurrido desde el momento del hecho al de la toma de muestra ( $t_2 - t_1$ ), expresado en horas.

### ***Ejemplo de cálculo de la alcoholemia retrospectiva:***

Supongamos que se trata de un homicidio culposo por accidente vehicular en el que el conductor es detenido y la **muestra sanguínea extraída seis horas después del hecho**.

El informe de Laboratorio arroja el siguiente valor: **0.8 gramos de alcohol etílico por 1000 ml de sangre**. Aplicando la fórmula para obtener la alcoholemia en un tiempo t de seis horas:

$$C_t = C_m + \beta \cdot t$$

$$C_m: 0,8 \text{ gramos/litro.}$$

$$\beta: 0.150 \text{ g / litro.hora}$$

$$t = \Delta t = (t_2 - t_1) = 6 \text{ horas}$$

$$C_t = 0.8 + 0.150 \cdot 6$$

$$C_t = 0.8 + 0.90$$

$$C_t = \mathbf{1.70 \text{ gramos/litro}}$$

Este valor de 1.70 g/l será la alcoholemia teórica en el momento del hecho, si fehacientemente estamos en la etapa de eliminación. Para asegurarse que un individuo se encuentra en la etapa de eliminación al momento de la primera toma de muestra, debería realizarse una segunda extracción sanguínea luego de una hora aproximadamente, para evaluar si la alcoholemia en esa segunda muestra es menor que en la primera.