

50524
21



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

INTOXICACIÓN
POR
MONÓXIDO DE CARBONO

T E S I N A

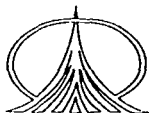
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

LLARA OLIVIA CEBALLOS CRUZ

ASESOR: M. EN C. VALENTÍN ISLAS PÉREZ



MÉXICO, D.F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ENERO DE 2003

1



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

AGRADECIMIENTOS

A mi madre: Andrea Cruz Martínez

Por su apoyo y por enseñarme a ser fuerte

A mi esposo: Pablo Lobato Vázquez

Con profundo agradecimiento por su total apoyo y ayuda para lograr este proyecto

A mis hijos: Pablo Alberto y Eva Gabriela

Por que son mi mayor felicidad

A mis hermanos: Fernando, Jorge, Claudia y Angel

Por las vivencias compartidas

A mi cuñada: Ramona Espinosa Moreno

Por creer en mi y por darme su amistad y confianza

A mis amigos y compañeros: Marisol Luis Carrillo

Maria de Jesús García Lara

Miguel Angel López Diaz

Aurelio Hernández Violante

Aimeé Sánchez Pérez

Ma. Del Carmen Guerrero García

Francisco Javier Ramos Sánchez

Porque han participado en mi desarrollo como ser humano

A la señora: Irma Victoria García

Por su valiosa ayuda

A mi asesor: M. En C. Valentín Islas Pérez

Por compartirme sus conocimientos y por su valiosa ayuda en la elaboración de este trabajo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SINODALES

PRESIDENTE	Q.F.I. Estela Valencia Plata
VOCAL	Q.F.B. Araceli García Del Valle
SECRETARIO	Q.F.B. Valentín Islas Pérez
SUPLENTE	Q.F.B. Enríqueta Castrejón Rodríguez
SUPLENTE	Q.F.B. Isidro Hinojosa López

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

	página
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
CAPÍTULO I	
GENERALIDADES SOBRE EL MONÓXIDO DE CARBONO	
1.1 Generalidades del monóxido de carbono	6
1.2 Química del monóxido de carbono	6
1.3 Propiedades físicas del monóxido de carbono	9
1.4 Fuentes de emisión de monóxido de carbono	10
1.5 Exposición al monóxido de carbono	13
1.6 Relación del monóxido de carbono con la muerte	15
1.7 Datos en intoxicaciones por monóxido de carbono	16
CAPÍTULO II	
FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA DEL MONÓXIDO DE CARBONO	
2.1 Farmacología y toxicología del monóxido de carbono	20
2.1.1 Formación de carboxihemoglobina (COHb)	20
2.2 Factores que determinan la toxicidad del monóxido de carbono	28
2.3 Signos y síntomas de la intoxicación por monóxido de carbono	29
2.4 Patología de la intoxicación por monóxido de carbono	31
2.5 Diagnóstico médico y químico de la intoxicación aguda por monóxido de carbono	32
2.6 Datos de laboratorio	35
2.7 Metabolismo del monóxido de carbono	35
2.7.1 Producción endógena del monóxido de carbono	36
2.7.2 Reacciones con tejidos y fluidos corporales	36
2.7.3 Destino y eliminación del monóxido de carbono	39
2.8 Mecanismo de la intoxicación por monóxido de carbono	41

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

2.9 Tratamiento de la intoxicación por monóxido de carbono	45
2.10 Pronóstico de la intoxicación por monóxido de carbono	46
2.11 Valores indicativos recomendados por la OMS	47

**CAPÍTULO III
INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA**

3.1 Investigación toxicológica	49
3.2 Autopsia	50
3.3 Medición de COHb en sangre	51
3.4 Muestras para analizar	53
3.5 Manejo de la muestra	53
3.6 Conservación de las pruebas	54
3.6.1 Problemas especiales en intoxicaciones por monóxido de carbono	55
3.7 Métodos de referencia	56
3.8 Métodos de extracción	58
3.9 Tóxicos del grupo I: Gases	59
3.10 Pruebas presuntivas	60
3.11 Métodos para determinar semicuantitativamente la COHb	65

**CAPÍTULO IV
PROPUESTAS PARA MEJORAR LA DETERMINACIÓN DE COHb,
APLICABLE EN LABORATORIOS DE TOXICOLOGÍA FORENSE**

4.1 Preparación de un estándar de COHb	81
4.2 Microanálisis de monóxido de carbono en sangre por Cromatografía de Gases en espacio de cabeza (Head Space) capilar	85
4.3 Análisis rápido de monóxido de carbono en sangre por Cromatografía de Gases, Usando μ L de muestra de sangre	87
CONCLUSIONES	93
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXO	98

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5

INTRODUCCION

El presente trabajo acerca de las intoxicaciones con Monóxido de Carbono (CO), es una investigación bibliográfica sobre los efectos del CO involucrado en muertes producidas en forma accidental, provocada o de tipo suicida.

El CO es un gas tóxico, incoloro, inodoro y es producto de la combustión incompleta. Las principales fuentes de este gas venenoso son los vehículos a motor, calentadores y las estufas dentro de los hogares.

La intoxicación con CO es una causa importante de muerte por envenenamiento, tanto que la mortalidad anual por exposición prolongada de forma accidental o intencional a dicho gas en 1985 fue de 1365 muertes en Inglaterra y de 3800 en los EUA. En México no hay datos precisos acerca de estas intoxicaciones, sin embargo es bien sabido que la intoxicación con CO sigue siendo un problema muy serio, ya que es la causa común de muertes accidentales provocadas por lesiones producidas por su inhalación.

El mecanismo específico por el cual el CO es tóxico se basa en la mayor afinidad de éste, que el oxígeno por la hemoglobina (Hb) con la cual se une a través de los grupos hemo, proporcionándole una afinidad de 210 a 300 veces mayor que su afinidad al oxígeno formando carboxihemoglobina (COHb).

Una ingestión de gases de CO no solo impide que el cuerpo use correctamente el Oxígeno sino también causa daño al Sistema Nervioso Central (SNC). La intoxicación en forma accidental es la más frecuente, en incendios es la causa de muerte inmediata más común, la forma suicida se realiza comúnmente mediante la inhalación del gas producida por el motor de un vehículo dentro de un espacio cerrado. Actualmente se usa poco con fines homicidas, la cual se lleva a cabo inundando con gas el dormitorio mientras la víctima duerme.

Los estudios químicos forenses para identificar al CO, como el tóxico causante de la muerte son varios y de fundamento diferente. La muestra preferida para

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

toxicología analítica es la sangre y conviene tomarla en tubo al vacío (Vacutainer) con EDTA o heparina, en autopsia, puede tomarse además médula ósea, vísceras macizas y músculo.

Aunque en los laboratorios de química forense del país utilizan técnicas cualitativas y/o semicuantitativas como la cámara de Conway o la espectroscopia UV para determinar la presencia de COHb en sangre en casos de intoxicación por CO, estas proporcionan resultados inexactos y poco precisos en caso de requerir resultados cuantitativos, por lo cual es indispensable evaluar los métodos que proporcionan resultados más precisos y exactos para cuantificar CO.

El presente trabajo es una revisión bibliográfica sobre técnicas analíticas para determinar COHb, con la finalidad de proponer una metodología adecuada que además de identificar la COHb, nos permita cuantificarla de manera confiable y contribuir a mejorar los dictámenes químicos, factible de ser aplicables en los diferentes laboratorios forenses.

Para realizar dicha investigación se ha recurrido a una amplia investigación bibliográfica, hemerográfica, búsqueda en Internet así como entrevistas con peritos químicos profesionales.

Como resultado de esta investigación, se propone la preparación de un Estándar (STD) de carboxihemoglobina y el cálculo de las constantes de cuantificación espectrofotométrica, para usar la determinación espectrofotométrica de la COHb, dicho STD tienen la particularidad de que una vez preparado permanece estable por más de cuatro meses cuando se almacena a 4°C y supera por mucho a los controles comerciales disponibles que solo son estables por un mes. Además se proponen dos metodologías analíticas para determinar cuantitativamente la COHb en sangre, usando cromatografía de gases con "head space" (espacio de cabeza), lo cual aumenta la eficiencia de la separación y disminuye notablemente el tiempo de análisis. Uno de los métodos combina la columna capilar con un detector de conductividad térmica (TCD) que es mucho más sensible que los detectores comunes; el otro, permite la cuantificación de la COHb, que depende de la oxidación

de la hemoglobina a metahemoglobina por $K_1 Fe[(CN)_6]$, para liberar el CO que pasa al Head Space y continúa por las columnas del CG. Con esta metodología se aumenta la estabilidad de la línea base, se acorta el tiempo de análisis y permite una estandarización simple. La ventaja de estas técnicas radica en que la COHb contenida en sangre, se almacena en tubos capilares tratados de tal manera, que le permite permanecer estable hasta por dos semanas. Las muestras de sangre se toman por venipuntura del talón o de la yema de algún dedo. Estos métodos además de proporcionarnos resultados cuantitativos, son sensibles y precisos.

Estas propuestas aseguran la cuantificación precisa de la COHb contenida en sangre, se pueden aplicar en laboratorios de toxicología forense y proporcionan datos útiles y confiables que podrán mejorar significativamente los dictámenes químicos.

OBJETIVOS

- I.- Realizar una revisión bibliográfica, sobre métodos de laboratorio que además de identificar la COHb, nos permita cuantificarla, para proporcionar datos útiles y confiables que contribuyan a mejorar los dictámenes químicos.

- II.- Evaluar dichos métodos y seleccionar el más adecuado con base a su efectividad.

- III.- Proponer una metodología estandarizada para determinar la COHb, aplicable en los diferentes laboratorios forenses.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO I
GENERALIDADES SOBRE EL MONÓXIDO DE CARBONO

1.1 GENERALIDADES DEL MONÓXIDO DE CARBONO

El CO es un gas altamente tóxico, ubicuo, inflamable, incoloro, inodoro e insípido aunque algunas personas refieren que tiene un leve sabor ácido en la boca. Debido a estas características puede ser inhalado por el ser humano sin percalarse de este, produciendo efectos tóxicos por ello.

Se produce cuando se queman combustibles con carbono de forma incompleta y también mediante procesos naturales o por la biotransformación de halometanos en el organismo humano. (3,6,15,21)

Como su densidad es igual a 0.967 (gravedad específica relativa con respecto al aire), es más liviano que el aire. Esta característica es importante en medicina legal, pues permite establecer el orden cronológico de la intoxicación en distintos individuos ubicados a distintas alturas en el lugar de los hechos. (2,19)

1.2 QUÍMICA DEL MONÓXIDO DE CARBONO

El CO es muy flamable, arde en el aire con flama azul brillante. Es una molécula diatómica, no corrosiva y totalmente estable que existe como gas en la atmósfera de la tierra. (3,8,9)

Comúnmente se forma durante la combustión incompleta de sustancias que contienen carbono, aunque también se produce en la industria debido a la oxidación parcial de gases de hidrocarburo, de gas natural o por la gasificación de hulla y coque y por la biotransformación de halometanos en el organismo humano. (21)

Presenta radiación en el visible y en la región ultravioleta-cercano del espectro electromagnético aunque la molécula absorbe muy débilmente entre las bandas a 125 y 155nm. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El CO absorbe la radiación en la región infrarroja correspondiente a la excitación vibracional de su campo eléctrico, por lo cual la banda principal de absorción está centrada en las 4.67 unidades de λ (μ). Esta propiedad se utiliza en la medición de concentraciones atmosféricas de CO.

Tiene un bajo momento dipolar eléctrico (0.10 debye), distancia interatómica corta (0.123nm) y alto calor de formación de átomos o fuerza de enlace (2072 kJ/mol). Estas observaciones sugieren que la molécula tiene un híbrido resonante de tres estructuras. (10,13)

El CO es un gas químicamente inerte en condiciones normales de temperatura y presión [25°C; 1 atm (101.3 kPa)], se vuelve reactivo con temperaturas más altas y es capaz de actuar como un enérgico agente reductor. A 90°C reacciona con el pentóxido de yodo y produce vapor de yodo y a 150°C también libera vapor de mercurio del óxido de mercurio (II). Ambas reacciones se emplean en la química analítica del CO. (10)

La oxidación del CO a dióxido de carbono (CO₂) es acelerada por catalizadores metálicos tales como el paladio en gel de sílice, o por una mezcla de óxidos de manganeso y cobre (Hopcalite). (10)

Al formar carboxihemoglobina (COHb), el CO reacciona con el hierro del protoheme - un elemento de la hemoglobina - y establece firmes enlaces de coordinación. Por lo tanto, esta COHb formada es tóxica porque es de 200 a 300 veces más estable que la oxihemoglobina (HbO₂). El CO también se combina en forma reversible con la mioglobina y los citocromos, incluido el P-450. (10)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

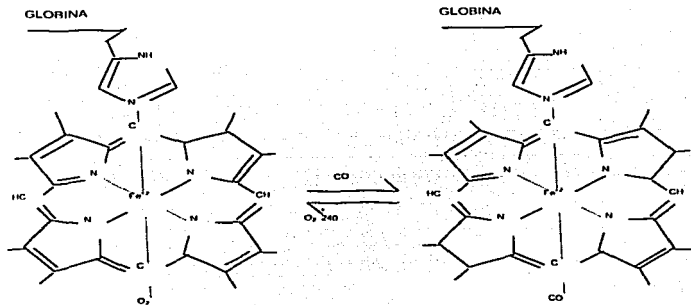


Fig. 1. Formación de la carboxihemoglobina (11)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.3 PROPIEDADES FÍSICAS DEL MONÓXIDO DE CARBONO

Tabla 1. Propiedades físicas del Monóxido de Carbono^a

Propiedad	Valor
Peso molecular	28.01
Punto Crítico	-140°C a 3495.7 kPa
Punto de fusión	-199°C
Punto de ebullición	-191.5°C
Punto de ignición en aire	700°C
Densidad	
a 0°C, 101.3 kPa	1.250 g/L
a 25°C, 101.3 kPa	1-145 g/L
Gravedad Específica relativa con respecto al aire	0.967
Solubilidad en agua ^b	
a 0°C	3.54 mL/100ml (44.3 ppm) ^c
a 20°C	2.32 mL/100ml (29.0 ppm) ^c
a 25°C	2.14 mL/100ml (26.8 ppm) ^c
Limite explosivo en aire	12.5-74.2%
Presión superior	1500 psi
Vibración fundamental de transición	2143.3 cm ⁻¹
Factores de conversión	
a 0°C, 101.3 kPa	1 mg/m ³ = 0.800 ppm ^d
	1 ppm = 1.250 mg/m ³
a 25°C, 101.3 kPa	1 mg/m ³ = 0.873 ppm ^d
	1 ppm = 1.145 mg/m ³

^a De NRC (1977) y The Merck Index (1989).

^b El volumen del monóxido de carbono es a 0°C, 1 atm (presión atmosférica a nivel del mar = 101.3 kPa).

^c Partes por millón por masa (ppmm = µg/g).

^d Partes por millón por volumen (ppm = mg/L).

(3,10,19)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.4 FUENTES DE EMISIÓN DE MONÓXIDO DE CARBONO

El CO se produce de manera natural y por procesos artificiales, aproximadamente la mitad del CO es liberado a la atmósfera terrestre. (3)

- A) Fuentes naturales.-** Existe normalmente en el aire, en los minerales (gases de las minas subterráneas, pozos de petróleo, etc.), en algunos vegetales (en los flotadores de una alga gigante) y en la sangre normal (cantidades mínimas).
- B) Fuentes artificiales.-** Estas fuentes de emisión de CO incluyen todas las producidas por los seres humanos. (9)

Según datos de informes publicados se sugiere que la actividad humana es responsable de cerca del 60% de la producción de CO y el 40% restante proviene de procesos naturales. Los procesos de combustión producen directamente cerca del 40% de la emisión anual de CO, y la oxidación de hidrocarburos provoca más producción de los residuos de CO (cerca del 50%), esta cifra se hace más grande al incluir otra fuente, los océanos y de la vegetación. (3)

Algunos hidrocarburos son también producidos por procesos de combustión constituyendo una fuente directa de CO por combustión. Estas conclusiones son resumidas en la tabla 2, la cual incluye en 1986 la emisión total de CO que es de aproximadamente 2600 millones de toneladas por año. Otros autores, dicen que la emisión global esta entre 2000 y 3000 millones de toneladas por año. (3)

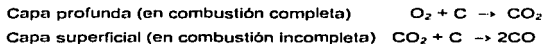
Por otro lado el CO también es producido en la atmósfera por reacciones de radicales hidroxilo con metano y otros hidrocarburos, tanto artificiales como naturales, o bien por reacciones de alcanos, como el isopropano, y terpenos con radicales hidroxilo y ozono. (3)

El CO también se produce en la superficie de la tierra durante la combustión de combustibles. Al arder cualquier combustible produce dos productos primarios: dióxido de carbono y Monóxido de carbono. La producción de dióxido de carbono predomina cuando el aire o el oxígeno que lo supe esta en exceso para completar

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

la combustión, si arde lo hace en condiciones ricas de combustible, con menos aire u oxígeno se produce CO. (3)

a) Combustión incompleta del carbón.- El uso de braseros para la calefacción es causa frecuente de intoxicaciones por CO. En un brasero con carbón, el anhídrido carbónico formado en la capa más profunda (que está en ignición completa), al pasar por las capas superficiales aún frías se transforma en CO, según la siguiente reacción:



Así se produce la liberación de CO en el aire, en cambio si los carbones de la capa superficial se hallasen en combustión completa, el CO se quemaría. La cantidad de CO que se desprende en la combustión incompleta depende de la cantidad y calidad del carbón, de la presión atmosférica, humedad y temperatura. (16)

- Experimentos efectuados demostraron que la combustión de 1 Kg de carbón puede convertir en tóxica una atmósfera de 25 m³.
- b) Gas de alumbrado.** - Ya se estableció, al estudiar este gas, que su toxicidad se debe principalmente al CO que contiene.
- c) Vehículos a motor.**- Los motores de automóviles son la fuente principal de emisión de CO.
- d) Humo de tabaco.**- El humo de tabaco contiene alrededor del 2% de CO.

*Un cigarro encendido desprende CO en cantidad que varía entre 20 y 80 cm³, según la calidad del tabaco. En pipa se produce más CO todavía.

Si consideramos que hay fumadores que consumen 30 o 40 cigarrillos o varias pipas por día, advertiremos que la cantidad de CO que absorben es grande, sobre todo si lo hacen en lugares cerrados.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

e) **Deflagración de explosivos.**- (Pólvora, nitroglicerina, dinamita, etc.) producen grandes cantidades de CO, puede llegar a ser el 60% de los gases producidos. (9)

Tabla 2. Fuentes de Monóxido de carbono*

	Producción de CO (millones de toneladas por año) ^a			
	Artificial	Natural	Global	Rango
Directamente de combustión				
Combustibles fósiles	500	-	500	400-1000
Bosque limpio	400	-	400	200-800
Sabana caliente	200	-	200	100-400
Leña	50	-	50	25-150
Quema de bosques	-	30	30	10-50
Oxidación de hidrocarburos				
Metano ^b	300	300	600	400-1000
Hidrocarburos con metano	90	600	690	300-1400
Otras fuentes				
Plantas	-	100	100	50-200
Océanos	-	40	40	20-80
Total (redondeado)	1500	1100	2600	2000-3000

^a Adaptado de Logan et al. (1981) y revisión reportada por la WMO (1986).

^b Todos los datos estimados son expresados en una cifra significante. La suma es redondeada a dos dígitos significantes.

^c La mitad de la producción de CO de oxidación de metano es atribuido a fuentes artificiales y la otra mitad a fuentes naturales basadas en la producción de metano de Khalil & Rasmussen (1984).

(3)

Las fuentes de emisión se dividen en 5 categorías de acuerdo a la EPA (Environmental Protection Agency) de U.S.A.

- 1) Transportación
- 2) Fuentes de combustible y estaciones
- 3) Procesos industriales
- 4) Disposición de desperdicios sólidos
- 5) Otras fuentes variadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La transportación incluye todas las fuentes de emisión móviles incluyendo vehículos a motor como autobuses de pasajeros, motocicletas, naves aéreas, locomotoras, embarcaciones, equipo industrial y maquinaria de construcción. Las otras fuentes de emisión resultan de la quema de bosques y productos de la agricultura, específicamente la quema de cosechas. (3)

El problema de la contaminación del aire en la Ciudad de México, se debe en gran parte a su geografía, ya que se localiza a una altitud media de 2240 m y esta situada en la cuenca mexicana. El oxígeno reducido en el aire a esta altitud, causa que las emisiones del CO por combustión incompleta, se incrementen y por ende se agraven los efectos en la salud atribuidos al CO, especialmente en niños, adultos mayores y mujeres embarazadas.

La World Health Organization (WHO), tiene clasificado a México en la categoría "C" de la calidad del aire, dicha categoría entra en la de "*serios problemas*" de contaminación ambiental. (3)

1.5 EXPOSICIÓN AL MONÓXIDO DE CARBONO

Las primeras exposiciones a este gas venenoso fueron al usar la madera y carbón como fuente de calor domestico. La combustión de combustibles fósiles esta asociado con el desarrollo industrial, explosiones en minas. La migración de poblaciones rurales a ciudades incrementa la proporción de población expuesta, así como el número de personas que generan CO. Un problema serio es la exposición ocupacional en los sitios de trabajo como en la policía de tránsito, los empleados en casetas de peaje, los mineros, trabajadores en hornos y fundidoras y los choferes de transporte público y federal. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

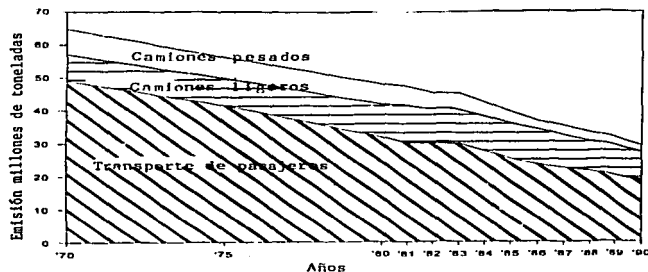


Fig.2. Emisión estimada de CO de automóviles que usan gasolina como combustible (adaptado de US EPA, 1999 a) (3)

.La mayoría de las exposiciones a CO ocurren en invierno y las fuentes más comunes de intoxicación por CO en los hogares son las estufas en cuartos sin ventilación adecuada, otras fuentes artificiales comunes incluyen:

- Aparatos de cocina en mal funcionamiento.
- El humo del tabaco.
- Las chimeneas sucias.
- Los tubos de escape de automóviles.
- Los calentadores de agua que no funcionan adecuadamente.
- Los hornos de leña, gas, carbón o aceite en mal funcionamiento.
- Las secadoras de ropa a gas en mal funcionamiento.
- Removedores de pintura que contengan cloruro de metileno.

1.6 RELACIÓN DEL MONÓXIDO DE CARBONO CON LA MUERTE

El envenenamiento por CO se conoce desde hace cientos de años, cuando nuestros antepasados intentaron hacer fuego en refugios cerrados. La primera descripción de envenenamiento por CO fue realizada por Claude Bernard en 1857 y desde entonces se han realizado avances importantes en la comprensión de la fisiopatología. (3.31)

Muchas muertes debidas a intoxicación por CO se relacionan con los motores en garajes aún con puertas o ventanas abiertas. La inhalación de humos de todos los tipos de fuegos es la segunda causa de envenenamiento por CO. Muchas muertes inmediatas en los incendios de edificios son debidas al envenenamiento por CO. (31)

Durante las actividades cotidianas normales, la población entra en contacto con el CO en diversos microambientes, al viajar en vehiculos de motor, en el lugar de trabajo, al visitar zonas urbanas asociadas con fuentes de combustión o al cocinar y calentarse con fuego de gas, carbón o leña, así como el humo del tabaco. En general, las exposiciones más importantes se producen en el vehiculo y en microambientes internos. (3)

Las muertes accidentales aumentan en época invernal, porque en este tiempo, debido al frío, se cierran puertas, ventanas y se calientan algunas habitaciones quemando carbón en anafres, no previniendo ni sabiendo el peligro a que se exponen con este procedimiento. (3)

El CO en presencia del aire puede ser respirado, produciendo solo una irritación en las vías aéreas, pero en espacios cerrados entra en contacto con la sangre, reemplazando al oxígeno y formando el compuesto llamado **Carboxihemoglobina (COHb)** que es el tóxico causante de envenenamientos o muertes por CO.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Aunque la combinación de CO con la hemoglobina (Hb) ocurre más lentamente que con el oxígeno, una vez formada la COHb el CO no se disocia de la Hb, hasta después de 4 o 5 horas que es el tiempo de vida media biológica del CO. (2)

Las livideces rojo cereza que presentan los cuerpos muertos por intoxicación con CO se deben al color rojo cereza de la COHb, que drena hacia las partes declives por gravedad.

La Hb tiene una afinidad para el CO, 210 veces mayor que para el oxígeno. La presencia de CO aumenta la estabilidad de la combinación oxígeno-hemoglobina. Por lo tanto en presencia de CO se reduce la disponibilidad de oxígeno a los tejidos y puede ser en dos formas: 1) Mediante combinación directa con la Hb para reducir la cantidad de Hb disponible para transportar oxígeno y 2) Evitando la liberación de este oxígeno con baja presión de éste, presente en los tejidos. (1)

1.7 DATOS EN INTOXICACIONES POR MONOXIDO DE CARBONO

El CO es responsable de más de la mitad de envenenamientos fatales que son reportados en el mundo cada año. National Safety Council, 1982, Faure et al., 1983, Cobb & Etzel, 1991, Mathieu et al. 1996). (3)

En niveles subletales (120 – 220 ppm) el envenenamiento con CO ocurre en pequeñas pero importantes fracciones en la población, existen ciertas condiciones del medio ambiente tanto del interior como del exterior que provoca que una pequeña parte de la población pueda quedar expuesta a peligrosos niveles de concentración de CO. (3)

En el exterior, las mayores concentraciones de CO se registran cerca de los cruces de calles, con tráfico intenso, cerca de los gases de escape de los motores de combustión interna, de fuentes industriales y en zonas poco ventiladas, como los estacionamientos cerrados y los túneles. En interiores, las concentraciones de CO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

alcanzan un nivel máximo en los lugares de trabajo o los hogares con aparatos de combustión defectuosos o mal ventilados, con corrientes descendentes o contracorrientes donde tienen que ser medidos los excesos de 110 mg/m^3 (100 ppm) resultando en niveles de COHb, hasta de 10% por cada 8 horas de exposición. (3)

De las 6000 muertes por quemadura en la USA cada año, más de la mitad es por daño al inhalar CO donde las víctimas mueren por hipoxia al inhalar el humo y envenenarse (Heimbach & Waeckerle, 1988), a pesar de los esfuerzos en prevención, en publicaciones y educación médica, estas intoxicaciones siguen siendo frecuentes, severas y además a menudo pasadas por alto. (Barret et al., 1985). (3)

Aunque el envenenamiento por CO no es nuevo, se ha puesto más atención. El primer estudio científico de la hipoxia producida por CO fue descrito por Bernard en 1865. La unión del CO con la Hb produce COHb, reacción evaluada por Douglas et al. En 1912, sentando los antecedentes para realizar un estudio sobre la respuesta humana al CO. Se espera que el próximo medio siglo (XXI) habrá numerosas investigaciones, con la finalidad de estudiar específicamente las altas concentraciones de CO, y su impacto sanitario. (3,31)

El envenenamiento con CO también es un riesgo ocupacional. Este problema ha recibido mayor atención al incrementarse el uso del gas natural, el número de personas fumadoras y las industrias. (3)

La mortalidad por exposición al CO es alta, en 1985 hubo 1365 muertes debidas a la exposición al CO en Inglaterra (Meredith & Vale, 1988). En la USA más de 3800 personas mueren anualmente por el CO accidental o intencionalmente, y más de 10000 individuos reciben atención médica o pierden un día de trabajo por una exposición subletal (US Center para el control de enfermedades, 1982). (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La mortalidad per capita y morbilidad estadística por CO en E.U.A. son sorprendentemente similares a países como Escandinavia y el Canadá. De cualquier modo, no todos los incidentes por envenenamiento con CO son reportados y los datos diarios son difíciles de obtener. En algunos lugares, es continua la vigilancia para registrar todos los casos que se presenten en los hospitales en determinada región. En caso de algún reporte éste se manda al centro del veneno que anualmente, emite reportes epidemiológicos de la localidad (Mathieu et al., 1996⁴). (3)

A menudo las personas dañadas con CO ignoran que fue debido a la exposición a este gas, porque los síntomas son similares a los de la gripe, esto puede resultar en un número significativo de diagnósticos incorrectos por médicos profesionales (Grace & Platt, 1981; Fisher & Rubin, 1982; Barret et al., 1985; Dolan et al., 1987; Heckerling et al., 1987, 1988; Kirkpatrick, 1987). Por lo tanto, el número preciso de individuos que han sufrido intoxicaciones por CO es desconocido, pero lo cierto es que la mortalidad es alta, sin embargo los reportes disponibles en literatura examinada indican la seriedad de este problema. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPITULO II
FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA
DEL
MONÓXIDO DE CARBONO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1 FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA DEL MONÓXIDO DE CARBONO

La alta toxicidad que posee el CO se debe a la capacidad de combinación que tiene con la hemoglobina (Hb) para formar carboxihemoglobina (COHb). En esta forma la Hb es incapaz de transportar oxígeno, ya que los dos gases reaccionan con los mismos grupos prostéticos del hemo en la molécula tetramérica de la Hb. (1)

El aire tiene 21% de oxígeno en volumen, por lo tanto la exposición a una mezcla gaseosa de 0.1% de CO (1000 ppm) en el aire ocasionaría una carboxihemoglobinemia cercana al 50%. (5,6,14,17)

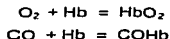
La disminución de la capacidad acarreadora de oxígeno en sangre es proporcional a la cantidad de COHb presente. Así, disminuye aún más el oxígeno que llega a los tejidos, esto por la inhibición que ocasiona la COHb en la disociación de cualquier oxihemoglobina (O_2Hb) disponible.

La toxicidad del CO no solo depende de la interferencia en el aporte de oxígeno por la sangre; este gas tiene la capacidad de ejercer un efecto tóxico directo al unirse a citocromos celulares que están presentes en enzimas respiratorias y en la mioglobina (Gutiérrez, 1982). (3)

2.1.1 FORMACIÓN DE CARBOXHEMOGLOBINA (COHb)

La acción tóxica del CO, se debe principalmente a su combinación con hemoglobina y mioglobina para formar COHb y carboximioglobina e interferir por ende, en la oxigenación de estas sustancias. El CO se combina también con oxidasa de citocromo ferroso, una de las enzimas respiratorias de los tejidos, e impide su acción, particularmente cuando el CO se encuentra a altas concentraciones. (18)

El CO se une a los átomos de hierro del hemo, de la misma manera que el oxígeno, pero con mucha mayor afinidad. Las reacciones globales de O_2 y CO_2 con hemoglobina (Hb) son:



Ocurren cuando se expone Hb a uno u otro de los gases. Cuando se expone Hb a una mezcla de los dos gases, hay competencia entre ellos por la Hb, como se muestra en la ecuación



Es importante mencionar que la luz promueve la disociación de COHb, y por ello es necesario equilibrar soluciones de sangre o Hb con CO en la obscuridad, cuando se estudia la reacción del CO con la Hb. (16,18)

Las proporciones relativas de Hb que se combinan con oxígeno y CO cuando se saturan soluciones de Hb con una mezcla de los dos gases son proporcionales a las presiones parciales de los gases en la mezcla. A esta relación se llega de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \frac{[COHb][O_2]}{[HbO_2][CO]} &= K \\ \frac{[COHb]_p O_2}{[HbO_2]_p CO} &= K \\ \frac{[COHb]}{[HbO_2]} &= k_p \frac{CO}{p O_2} \end{aligned}$$

donde pCO_2 y $p O_2$ representan las presiones parciales de CO y O_2 y K es la constante de afinidad de la reacción. El valor de K para la sangre humana a 38°C es 210 aproximadamente, por lo tanto, en estas condiciones la afinidad de la Hb por CO es 210 veces más que la afinidad por el oxígeno. De la ecuación anterior se derivan las siguientes expresiones, para las fracciones de Hb convertidas en COHb y HbO_2 por una mezcla de los dos gases:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

$$[\text{COHb}] / [\text{COHb}] + [\text{HbO}_2] = K_{\text{pCO}} / p_{\text{O}_2} + K_{\text{pCO}} \quad \text{y}$$

$$[\text{HbO}_2] / [\text{COHb}] + [\text{HbO}_2] = p_{\text{O}_2} / p_{\text{O}_2} + K_{\text{pCO}}$$

Estas ecuaciones sólo son válidas cuando toda la Hb se convierte en COHb y HbO₂. En el siguiente cuadro se dan los porcentajes aproximados de COHb formada en sangre humana cuando se equilibra en la obscuridad con aire más CO y con oxígeno más CO a 760mm y 38°C. Las cifras del cuadro muestran que, cuando en aire hay presentes cantidades muy pequeñas de CO, una proporción relativamente grande de Hb se convierte en COHb, esto explica la acción extremadamente tóxica del gas cuando se respiran estas mezclas. (18)

Tabla 3. Competencia por la Hb entre el Oxígeno y el CO

CO por 100	Porcentaje de COHb	
	aire 760 mm	Oxígeno 760 mm
0.04	52	13
0.08	68	22
0.12	77	30
0.16	81	36
0.20	84	42
0.24	86	46
0.28	88	50

Las cifras muestran también que si a una persona intoxicada por haber respirado aire con CO se le administra oxígeno puro, se promoverá la conversión de COHb a HbO₂. En este caso la alta concentración de oxígeno en sangre tiende a desplazar al CO de la COHb por la ley de acción de las masas, y este gas es exhalado irreversiblemente por los pulmones. (18)

Alta concentración $\text{COHb} + \text{O}_2 = \text{HbO}_2 + \text{CO}$ exhalado por los pulmones

Haldane señaló que los síntomas de anoxia causados por intoxicación con CO sobrepasan con mucho en gravedad a los de anemia cuando el contenido de oxígeno de la sangre es el mismo en los dos estados. En estos casos de intoxicación por CO, algunos de los átomos de hierro de la Hb retienen moléculas de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CO, mientras otros retienen moléculas de oxígeno. A bajas presiones de oxígeno que prevalecen en tejidos y capilares estas moléculas mezcladas ceden su oxígeno menos fácilmente que las moléculas de Hb que retienen la misma cantidad de oxígeno solo, por lo tanto, la presencia de CO con oxígeno en la molécula de Hb puede causar grave hipoxia tisular, mientras el mismo contenido de oxígeno en ausencia de CO puede resultar suficiente. Así el CO ejerce una acción doble: impide la captación de cantidades normales de oxígeno en pulmones e interfiere en la descarga de este gas en los tejidos. (18)

La COHb se distingue con claridad de la Hb y la HbO₂ por su color rojo cereza, el espectro de absorción de COHb exhibe bandas con centros a 570 y 535 m μ , respectivamente, que están cerca de las bandas de HbO₂. Se han ideado varias pruebas químicas para la determinación de COHb en sangre, una muy sencilla consiste en tratar la sangre sospechosa con un poco de NaOH, diluir mucho, y posteriormente compararla con sangre normal tratada de la misma forma, la sangre normal presenta un matiz verdoso, mientras la sangre con CO permanece con color rosa, la dilución simple sin adición de NaOH, también muestra que la sangre con CO tiene color rosa, mientras la sangre normal es de color rojo más pardusco. (18)

En 1965, Coburn, Foster y Kane desarrollaron una ecuación diferencial para describir mejor las variables fisiológicas que determinan la concentración de COHb en sangre, examinando la producción endógena de CO. Esta ecuación conocida como modelo CFK, es muy usada para predecir la concentración de COHb en sangre después de una exposición al CO. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

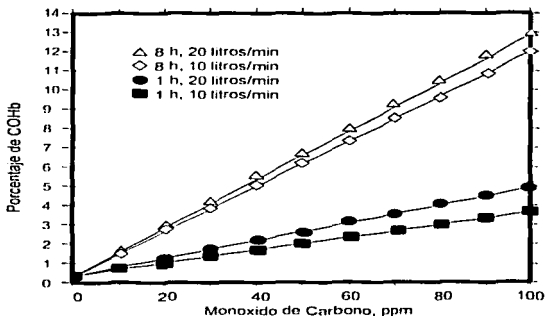


Fig. 3. Relación entre la concentración de CO y los niveles de COHb en cuatro diferentes condiciones de exposición. Los niveles de COHb predichos resultan de exposiciones de 1 y 8 horas al CO en reposo (velocidad de ventilación alveolar de 10 litros / minuto) y con ejercicio (20 litros/min.). Están basados en la ecuación CFK (Coburn et al., 1965) usando los siguientes parámetros y asumiendo, que las personas no fuman: altitud = 0 ft (0 m), niveles de COHb inicial = 0.5%, coeficiente de Haldane = 218, volumen de sangre = 5.5 litros, niveles de Hb = 15g/100, difusividad en pulmones = 30 ml/torr (0.23 ml/Pa) por minuto, velocidad endógena = 0.007 ml/min.

Se usa por dos razones, primero, este modelo es más sólido que la suposición original. Segundo, el modelo puede ser adaptado fácilmente en aplicaciones más especializadas, la siguiente ecuación representa el modelo CFK:

$$V_A d[\text{COHb}]/dt = V_{\text{CO}} - [\text{COHb}] P_c O_2 / MB[O_2, \text{hb}] + P_i \text{CO}/B$$

Donde: $B = 1/d_L \text{CO} + P_L / V_A$

V_A = Es el volumen de sangre en mililitros (5500 ml)

$[\text{COHb}]$ = Representa los mililitros de CO por mililitro de sangre

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V_{CO} = Es la producción endógena de CO en mililitros por minuto
(0.007 mL/min.)

$P_c O_2$ = Es el promedio de la presión parcial de oxígeno en los capilares pulmonares en milímetros de mercurio (100 mmHg)

M = Es la proporción de afinidad de Haldane (218)

$[O_2 Hb]$ = Representa los mililitros de oxígeno por mililitro de sangre
(la capacidad máxima de oxígeno de sangre es 0.2)

$P_1 CO$ = Presión parcial del CO al inhalarse del aire, en mmHg

$D_L CO$ = Es la capacidad de difusión pulmonar por el CO en
(30 mL/min. Por mmHg)

P_L = Presión de gases en pulmones en milímetros de mercurio
(713 mmHg)

V_A = Es la velocidad de la ventilación alveolar en mililitros por minuto
(6000 mL/min.)

Asumiendo que $[O_2 Hb]$ es constante, esta ecuación es lineal. En este caso dicha ecuación está limitada a niveles relativamente bajos de COHb; para niveles mayores, la reducción en oxihemoglobina incrementando la COHb debe ser tomada en cuenta, formándose así la ecuación misma pero no lineal. El valor indicado entre paréntesis para las variables son valores que da Peterson & Stewart (1970), pero no está bien establecido si estas condiciones que se ponen sean consistentes (por ejemplo, Temperatura del cuerpo y presión, saturada con vapor de agua, o presión y temperatura estándar, seco) cuando es usado. Peterson & Stewart (1970) asumen que los valores son constantes para $[O_2 Hb]$, así hacen dicha ecuación lineal. Restringiendo las condiciones a bajas exposiciones al CO se permite una suposición matemática de un instante de equilibrio de:

- 1) los gases en pulmones
- 2) la concentración de COHb entre sangre venosa y sangre arterial
- 3) la concentración de COHb entre la sangre y el CO almacenado en tejidos no vasculares.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

No todas las variables fisiológicas influyen igualmente en el tiempo de formación y valor de equilibrio de la COHb en sangre. Además la medida de error estimado en estas variables puede producir errores en los niveles calculados de COHb en sangre. Para hacer sensibles el análisis de ambas la linealizada y la no linealizada de la ecuación CFK, asumiendo que existen diferentes cargas de trabajo, McCartney (1990) determinando los efectos de estos errores en los valores de las variables pueden tener en los valores calculados de [COHb] gráficas de comportamiento temporal de sensibilidad fraccional (F) de la clave determinante de [COHb]. (3)

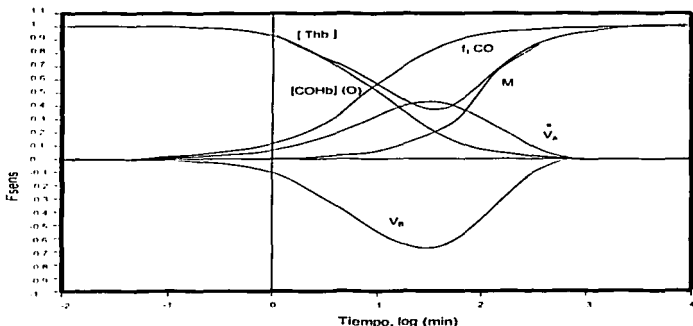


Fig. 4. Gráfica de la sensibilidad fraccional de la COHb para determinar la COHb en función del tiempo (McCartney, 1990). (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la gráfica anterior la forma linearizada de la ecuación de CFK es usada para desarrollar las curvas para una serie de variables, asumiendo que hay un minuto de ventilación estable (34.5 litros/minuto) y una concentración constante en el ambiente de CO (110 mg/m^3 [100 ppm]). La sensibilidad fraccionaria de 1 quiere decir que este al 1% de error en el valor de una variable inducirá al 15 de error en el valor calculado de [COHb] en equilibrio. (3)

Como se observa en la gráfica, los valores de V_B , V_A y D_L CO (no graficado) no tiene influencia en el valor inicial o el equilibrio de la concentración de COHb pero afecta la velocidad con la cual el equilibrio se lleva a cabo. El error de estas variables no afecta el equilibrio calculado de la concentración de la COHb en sangre. Todas las demás variables, de cualquier modo, afectan tanto el equilibrio de la COHb como la velocidad en la cual este es aproximado. La determinación incorrecta del valor inicial de [COHb] y [THb] (concentración de Hb en sangre total) inducirá errores en la concentración de COHb durante su aumento. (3)

Mientras un error en el valor inicial de [COHb] pierde progresivamente influencia en el calculado [COHb], para [THb] el impacto de este error en [COHb] puede ser disminuido solo transitoriamente, recuperando este su efecto completo en el equilibrio. En contraste con el valor inicial de [COHb], un error en M , $P_c O_2$ o $F_i C$. Tendrá influencia máxima en el equilibrio. (3)

Hill et al. (1977) realiza una gráfica donde pronostica valores de COHb en sangre en (%) en una madre y su feto durante una prolongada exposición de la madre al CO (34-340 mg/m^3 [30-300 ppm]) y un subsecuente descenso del CO en el aire, como aquí se muestra:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

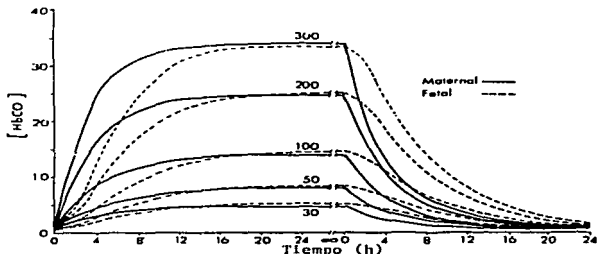


Fig. 5. Gráfica del modelo CFK pronostica el aumento de COHb en sangre (%) (de Hill et al., 1977).

2.2 FACTORES QUE DETERMINAN LA TOXICIDAD DEL CO

La toxicidad del CO se debe principalmente a:

- La concentración de CO en el aire inspirado
- El tiempo de exposición
- El volumen respiratorio por minuto
- El gasto cardiaco
- La necesidad tisular de oxígeno
- La concentración de Hb en sangre.

Las personas que presentan anemia son más susceptibles a la intoxicación por CO que las que tienen cantidades normales de Hb, el metabolismo más intenso empeora los síntomas de la intoxicación por CO; por esto los niños mueren antes que los adultos en exposiciones a concentraciones altas de este gas. (14)

2.3 SIGNOS Y SINTOMAS DE LA INTOXICACION POR MONÓXIDO DE CARBONO

En una intoxicación por CO los signos y síntomas que se presentan son los característicos de la hipoxia. El cerebro y el corazón son los órganos con mayor necesidad de oxígeno y con metabolismo intenso lo que los hace más sensibles a la hipoxia, y es en ellos donde se manifiestan la mayoría de los efectos que se presentan después de la exposición al CO. Los síntomas de dicha intoxicación pueden variar entre personas, la velocidad y duración de la captación y parámetros cinéticos afines, a veces, la inhalación de concentraciones altas de CO produce signos prodrómicos (debilidad y mareos transitorios) antes de perder la conciencia, pero no siempre ocurre algún signo de este tipo.

Las concentraciones moderadas de COHb tienen poco efecto en las funciones vitales de un individuo. La presencia de COHb disminuye la capacidad oxífera, pero no la PO_2 de la sangre arterial, por lo tanto el mecanismo de quimiorreceptores carotídeo y aórtico no estimula la respiración. La frecuencia cardíaca aumenta en todos los individuos donde la COHb llega al 30%, quizá para compensar la vasodilatación periférica causada por la hipoxia; la lactacidosis es consecuencia de la hipoxia tisular. (14)

Se presentan signos clínicos diversos en intoxicaciones agudas por CO, se han presentado síntomas atípicos de este cuadro, como lo son: lesiones cutáneas, sudoración excesiva, hepatomegalia, tendencia hemorrágica, hiperpirexia, leucocitosis, albuminuria y glucosuria. Se debe utilizar el nivel sanguíneo de COHb sólo como una forma semicuantitativa para relacionar la exposición con el efecto.

Otros signos que se presentan en un envenenamiento por CO son la coloración rojo cereza de la piel; los lechos ungueales y los labios también pueden mostrar el color característico, que en vivo solo se alcanza a apreciar hasta que se tiene una concentración de saturación. En las regiones hipostáticas del cadáver es casi siempre obvio, pero las excepciones son ancianos y anémicos, donde la reducción en el contenido de hemoglobina disminuye la intensidad de dicha coloración. (5)

En el interior del cuerpo, todos los órganos tienen coloración rosada por la presencia de COHb y mioglobina, es común el edema pulmonar, sin cambio específico en ellos, solo en cerebro donde los sobrevivientes presentan degeneración quística bilateral de los ganglios basales, con síndrome parkinsoniano o un estado neurológico más grave. También es posible provocar daño psicológico a largo plazo, después de una hipoxia cerebral profunda por envenenamiento con CO.

(5)

Tabla 4. Signos y síntomas asociados con diferentes concentraciones de COHb en intoxicaciones por CO.

CO en la atmósfera		COHb en sangre		Signos y síntomas
%	mg/m ³	ppm	(%)	
0.007	80	70	10	Efectos no apreciables, es posible dolor cabeza leve, dilatación de vasos sanguíneos cutáneos.
0.01	140	120	20	Disminución moderada de la respiración, dolor de cabeza con palpitaciones en la sien, sensación de fatiga, posible mareo.
0.02	250	220	30	Dolor de cabeza, irritabilidad, fatiga, trastorno del juicio, posible mareo, disminución de la vista.
0.035	400	350	40-50	Dolor de cabeza, confusión, colapso, visión borrosa.
0.052	600	520		Incremento de la velocidad del pulso y la respiración.
0.080	900	800	60-70	Inconsciencia, convulsiones intermitentes.
0.122	1400	1220		Fracaso de la respiración, muerte si la exposición continúa.
0.195	2200	1950	80	Pulso débil, baja respiración, muerte en pocas horas.
			90	Muerte en menos de una hora.
			100	Muerte en pocos minutos.

(3,5,6,15,21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4 PATOLOGIA DE LA INTOXICACIÓN POR MONÓXIDO DE CARBONO

Los tejidos más afectados en una exposición al CO son el cerebro y el corazón, y las lesiones son predominantemente hemorrágicas. Puede haber daño permanente en corazón por la presencia de COHb en sangre; pueden observarse signos de cambios isquémicos y de infarto subendocárdico. El dolor de cabeza intenso que se presenta luego de una exposición al CO se debe al edema cerebral e hipertensión intracraneal, resultado del trasudado excesivo por capilares hipóxicos. (14)

Finck (1966) ha catalogado los cambios patológicos macroscópicos observados en 351 casos mortales de intoxicación accidental por CO; los casos prontamente mortales se caracterizaron por congestión y hemorragias de todos los órganos. En situaciones más prolongadas que culminaron con la muerte, las lesiones hipóxicas observadas dependieron de la duración de la inconsciencia poshipóxica. (14)

La intoxicación profunda por CO produce lesiones cutáneas que varían desde áreas de eritema y edema hasta la formación de vesículas muy notorias.

El examen microscópico revela lesión de células nerviosas, especialmente en la corteza cerebral y en la medula espinal.

En la parte anterior del tórax, del abdomen y de los muslos se encuentran manchas de color rojo cereza vivo, distintas de las manchas hipostáticas. Las vísceras tienen color rojo cereza vivo, en las mucosas sobre todo en la gastrointestinal, se ven sufusiones (Derrame, especialmente sanguíneo; hemorragia con infiltración en los tejidos) semejantes a las producidas por cáusticos, como el arsénico.

El aparato respiratorio presenta edema pulmonar rojo vivo (edema carminado de Lacassagne), manchas (petequias) equimóticas subpleurales de Tardieu e infartos de volumen variable.

ESTE CON
FALLA DE ORIGEN

En el cerebro y en los troncos nerviosos se observan edema cerebral y focos hemorrágicos (puntillado hemorrágico). Estas lesiones son susceptibles de modificarse por la putrefacción, y el color rojo vivo no puede ser tan marcado en aquellos casos que fueron sometidos a oxigenoterapia intensa. (14)

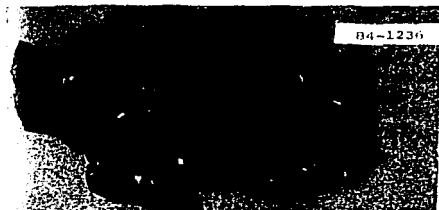


Fig. 6. Intoxicación por monóxido de carbono, tonalidad rojo cereza de sangre y tejidos (33)

2.5 DIAGNÓSTICO MEDICO Y QUÍMICO DE LA INTOXICACIÓN AGUDA POR MONÓXIDO DE CARBONO

El diagnóstico de la intoxicación aguda por CO se facilita por las pruebas circunstanciales referidas con la víctima. La COHb tiene un color rojo cereza y al presentarse en altas concentraciones en sangre capilar puede dar un color rojo anormal a la piel, mucosas y lechos ungueales. Aunque en individuos vivos se presenta más bien cianótico y pálido, es solo en la necropsia cuando se advierte la "cianosis rojo cereza". El diagnóstico definitivo depende de la demostración de la presencia de COHb en sangre. En la persona fuertemente intoxicada no se retrasa el tratamiento por realizar dicha prueba, pero si ha de demostrarse la presencia de COHb por la importancia forense que conlleva. Si la persona muere en un ambiente de concentraciones altas de CO, la muestra sanguínea *post mortem* suele contener 60% de COHb; aunque se ha demostrado que algunos mueren con concentraciones

menores. Si el individuo es retirado de dicho ambiente cuando aun respira disminuirá la concentración de COHb rápidamente, y si el intercambio respiratorio es adecuado, dicha forma de hemoglobina desaparece de la sangre en un lapso de horas. (14)

Aunque existen muchos métodos para confirmar la presencia de COHb los más utilizados son el óptico y el químico. La detección óptica se basa en el hecho de que dos bandas de absorción en el espectro de COHb (D y E) se encuentran en el segmento amarillo-verde, pero cerca del violeta y de la oxihemoglobina. Cuando se examina una mezcla de oxihemoglobina y COHb con el espectroscopio, la distancia a la que se encuentran proporciona la medición de saturación. Los sistemas químicos se basan en cromatografía de gases o en liberación de CO por medio de cloruro de paladio. Las pruebas de color basadas en la reacción de guayacol, o-toluidina y bencidina con la hematina ácida en presencia de peróxido de hidrógeno son sensibles para descubrir la presencia de pequeñas cantidades de Hb o de sangre, estas pruebas tienen importancia clínica y médico-legal en la investigación de sangre. (5)

Mediante el espectrofotómetro se vierte en una de sus cubetas una solución de 2 gotas de sangre en agua, se pueden encontrar las 2 bandas de absorción de las 575 y 537, que dan tanto la COHb como la HbO₂

En el diagnóstico de la intoxicación por CO se deben distinguir dos casos:

- a) la persona no sobrevivió a la exposición al tóxico, y
- b) después de la exposición hubo un lapso de sobrevida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Fig. 7. Envenenamiento con CO, se ha volteado el cadáver para mostrar las zonas de hipostasis color rosa oscuro por COHb. (señaladas con flechas) (5)

En el primer caso se puede identificar rápidamente la presencia del CO mediante un espectro UV - visible, en el segundo caso, los niveles de CO varían generalmente de 35 a 80% de saturación de acuerdo con los factores siguientes:

- rapidez de la intoxicación
- capacidad de la persona para tolerar la falta de oxígeno
- la presencia de drogas dispersas, usualmente alcohol.

Cuando la intoxicación por CO ocurre rápidamente, la muerte sobreviene a niveles bajos, por incapacidad de adaptación al déficit de oxígeno. (2)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las estimaciones clínicas de Hb en sangre se efectúan más comúnmente por examen colorimétrico o espectrofotométrico de soluciones que contienen hematina ácida o alcalina, o Hb alcalina o COHb. Como prácticamente todo el hierro de la sangre esta en la Hb, su determinación puede usarse también para determinar Hb en sangre, cuando en esta hay cantidades apreciables de metahemoglobina o COHb, el único procedimiento que da valores de Hb funcional es el método gasométrico para medir la capacidad de oxígeno, este método sirve en general como estándar para comprobar otros procedimientos. (2)

Es importante mencionar también que, si la persona acude con envenenamiento por CO como resultado de un intento de suicidio, deberán hacerse un estudio de niveles de drogas tales como acetaminofen, salicilatos y etanol para saber si el consumo de drogas pudo haber aumentado la toxicidad del CO o si la exposición a éste, pudo alterar los efectos tóxicos o de otro tipo de las drogas. (3)

2.6 DATOS DE LABORATORIO

1. La cuenta de leucocitos puede ser normal o encontrarse elevada a 18000 o más.
 2. Se medirá la cifra de COHb mediante el espectrofotómetro.
 3. Puede haber proteinuria.
 4. Está indicado un ECG para señalar el posible daño al miocardio.
 5. La prueba radiográfica de edema perihiliar o intraalveolar indica mal pronóstico.
- (21)

2.7 METABOLISMO DEL MONÓXIDO DE CARBONO

Los principales factores que determinan la concentración final de la COHb son; la cantidad de CO inhalado, la ventilación alveolar en reposo y durante el ejercicio, la producción de CO endógeno, el volumen de sangre, la presión barométrica y la capacidad de difusión relativa de los pulmones. El índice de difusión desde los

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

alvéolos y la fijación del CO a la Hb son los elementos que limitan el índice de absorción por la sangre. (10)

2.7.1 PRODUCCIÓN ENDÓGENA DEL CO.

El CO puede producirse de forma endógena a partir del catabolismo de las cadenas de pirrol, que se originan en la Hb, la mioglobina, los citocromos y otros pigmentos que contienen el grupo heme. El catabolismo del heme es la principal fuente de producción endógena de CO.

Se considera que la concentración de COHb endógena en el hombre es de 0.1–1.0% aproximadamente. se ha comprobado en aumento de esta producción endógena de CO en casos de anemia hemolítica (Coburn et al., 1966), también puede esperarse ese aumento cuando existen hematomas o después de la exposición a ciertas sustancias químicas tóxicas que causan hemólisis. La principal fuente endógena de CO es probablemente el hígado, como consecuencia del aumento de los citocromos inducidos por ciertos fármacos (Coburn 1970 a), o en casos de porfiria cutánea tardía ya sea adquirida o asintomática (White, 1970). También la médula ósea es una fuente importante de CO en hemopatías, tales como anemia sideroblástica caracterizada por la ineficacia de la eritropoyesis. En los neonatos pueden encontrarse concentraciones elevadas de CO endógeno así como también en mujeres que se encuentran en fase progestéronica del ciclo menstrual (Delivoria – Papadopoulos et al., 1970; Longo, 1970) y más durante el embarazo. (10)

2.7.2 REACCIONES CON TEJIDOS Y FLUIDOS CORPORALES.

El trabajo integrado del aparato respiratorio y del cardiovascular para transportar oxígeno de la atmósfera a los tejidos del cuerpo, suministra la cantidad de oxígeno necesaria para mantener el metabolismo de los tejidos. Prácticamente todo el

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

oxígeno a excepción del disuelto en plasma, esta unido en forma reversible a la Hb contenida en los eritrocitos. La característica química más importante del CO es que el enlace que establece con la Hb también es reversible, por lo tanto, compite con el oxígeno por los cuatro puntos de enlace de la molécula de Hb. (10) Este fenómeno se representa por la ecuación de Haldane:

$$\text{HbCO}/\text{HbO}_2 = M \times p \text{ CO} / p \text{ O}_2$$

En donde la constante de equilibrio M expresa la relativa afinidad de la Hb por el CO y el oxígeno cuando la concentración de Hb reducida es mínima, $p \text{ CO}_2$ y $p \text{ O}_2$ representan el equilibrio de las presiones parciales de los gases; la presión en eritrocitos o en la solución de hemoglobina son las mismas que en la etapa de equilibrio del gas. $[\text{COHb}]$ y $[\text{HbO}_2]$ son las concentraciones de COHb y HbO₂ respectivamente. La M tiene un valor de alrededor de 200 en la mayor parte de las especies, aunque el CO se combina más lentamente con la Hb que el oxígeno. La COHb se disocia muy lentamente por la estabilidad del enlace del CO con la Hb. (10)

Roughton (1970) presentó un análisis muy completo de la interacción del CO con la Hb eritrocítica, y muestra que en el caso del hombre, M es más elevada de lo que comúnmente se piensa, es decir, puede variar de entre 240 a 250, aunque el valor de M depende del punto de referencia en la curva de disociación. (10)

Al solucionar la ecuación de Haldane encontraremos una concentración aproximada de COHb; suponiendo que la exposición con concentraciones de CO de 28.7, 57.5 ó 115 mg/m³ (25.50 ó 100 ppm), produciría saturaciones de COHb de unos 4, 8, 9, 2 y 16.3%, cuando la presión del oxígeno arterial es de 10.7 kPa (80 Torr).

La explicación se debe a que el CO se introduce en pulmones al inspirar aire y se difunde por la membrana capilar alveolar en forma parecida a la del oxígeno. Si por varias horas se inspira aire con una concentración constante de CO, el índice de absorción de CO disminuye en forma exponencial hasta llegar a un estado de equilibrio donde la presión parcial del CO en sangre capilar pulmonar es la misma que en la cavidad alveolar. (10)

TESIS CON
PAULA DE ORIGEN

El transporte de oxígeno en la sangre se explica mejor mostrando la curva de disociación de la oxihemoglobina, fig. 8. En presencia de COHb, esta curva pierde su forma sigmoidea típica, y se desvía hacia la izquierda, de modo que existe una presión menor de oxígeno para la misma saturación de oxihemoglobina, en comparación con la sangre que no contiene COHb (Roughton y Darling, 1944).

En la figura 8 se observa claramente el grado de desviación de Haldane a la izquierda que las curvas típicas de la figura 8. Mulhsusen et al. (1968) ejemplificaron esta desviación mostrando que la tensión de oxígeno en la media saturación variaba de 3.6 a 3.1 kPa (26.7 a 23.2 Torr) en sujetos que constantemente están expuestos a una concentración elevada de CO ambiental.

El CO no solo disminuye la cantidad total de oxígeno disponible reemplazando directamente a éste (figura 8), sino que además altera la disociación de oxígeno restante, que es retenido más fuertemente por la Hb y liberado con tensiones de oxígeno más bajas. La curva de oxihemoglobina en presencia de COHb se parece gradualmente a la curva simple de la disociación del oxígeno de la mioglobina, que es un compuesto del heme con un solo grupo heme por molécula, y no presenta interacciones entre los hemes. Posiblemente la combinación de uno o más de los cuatro grupos heme de la Hb con el CO disminuya las interacciones entre los hemes de las unidades restantes, y en consecuencia la molécula se comporte en formas parecida a la mioglobina. (10)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

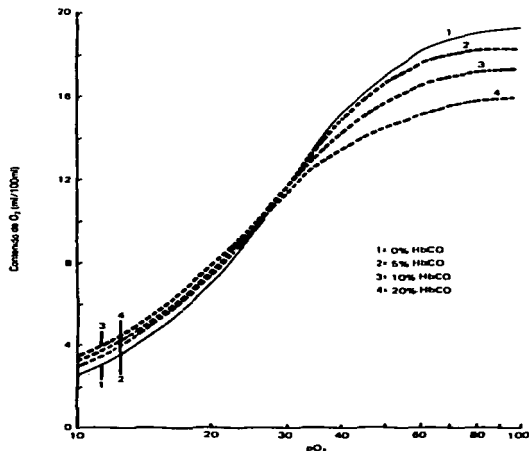


Fig. 8. Curva de disociación del oxígeno en presencia y ausencia de diversas concentraciones de CO.

2.7.3 DESTINO Y ELIMINACION DEL MONÓXIDO DE CARBONO

La COHb se disocia totalmente y al terminar una exposición aguda, el CO se excreta por pulmones y una cantidad muy pequeña se oxida a dióxido de carbono (CO₂) el CO no se excreta si no hay respiración activa.

La COHb es muy estable tanto, que no la afecta la putrefacción. Por lo tanto, mucho tiempo después de muerte una persona, puede hacerse mediciones válidas de las concentraciones de COHb en el cuerpo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Después de la muerte el CO se absorbe poco o nada y el análisis de sangre del corazón permite hacer una medición precisa de la concentración en sangre de COHb al morir el sujeto. Estos datos son de interés médico-legal.

El tiempo de eliminación puede disminuirse con ejercicio o administración de oxígeno puro. La vida media biológica del CO en una persona sana es de 4 a 5 horas, esta vida media decrece a aproximadamente 80 min. cuando se administra oxígeno al 100% y a 23 minutos si es usado oxígeno hiperbárico. (3)

La velocidad de formación y eliminación de la COHb, depende de su concentración en sangre y del catabolismo que son controlados por numerosos mecanismos físicos y fisiológicos. (3)

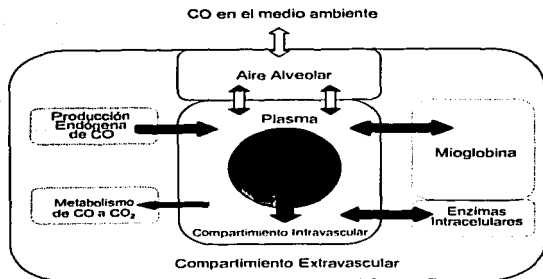


Fig. 9. Transporte, distribución y metabolismo del CO en los compartimentos del cuerpo. (3)

2.8 MECANISMO DE LA INTOXICACIÓN POR MONÓXIDO DE CARBONO

El CO llega al alvéolo pulmonar pasa y se diluye en sangre fijándose a la hemoglobina, formando así COHb, impidiendo el transporte de oxígeno a los tejidos: ocasiona así la muerte por anoxemia, con síntomas similares a la asfixia (anoxia anémica). Es decir que el CO producirá la muerte por falta de oxígeno simplemente y no por acción directa sobre los tejidos. Sin embargo aparecen síntomas nerviosos (parálisis, neuritis, etc.) que no se explican solo por la asfixia; parecen ser ocasionados por la formación de trombos causados por la caída de la presión arterial con retardo de la velocidad de la sangre intracapilar, pequeñas hemorragias y reblandecimientos que, conforme a su localización, provocarán lesiones variadas. (9)

Además de la reacción del CO con la Hb, se combina también con la mioglobina, los citocromos y las enzimas metálicas, como la citocromo c oxidasa y el citocromo P-450. (3)

El intercambio de CO entre el aire que respiramos y el organismo está controlado por procesos físicos (transporte y difusión masivos) y fisiológicos (ventilación alveolar y rendimiento cardíaco). El CO pasa fácilmente de pulmones a torrente sanguíneo. La fase final en este proceso consiste en la unión competitiva del CO y el oxígeno a la Hb en los glóbulos rojos, formando COHb y oxihemoglobina, la producción de COHb, parece ser el principal mecanismo de acción que desencadena la inducción de los efectos tóxicos de la exposición a concentraciones bajas del CO. Los posibles mecanismos de toxicidad incluyen:

- Disminución de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre
- Alteración de las características de disociación de la curva de la oxihemoglobina, con la consiguiente disminución del aporte de oxígeno a los tejidos.
- Disminución en la respiración tisular
- Unión con la mioglobina, causando potencialmente disfunción del músculo miocárdico y esquelético.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El mecanismo más claro por el cuál el CO es tóxico es por competir en las uniones de los grupos hemo de la Hb. Este efecto es magnificado por las propiedades alostéricas de la molécula de Hb, su estructura tetramérica sufre un cambio en su conformación cuando el CO se une a uno de sus cuatro sitios hemo, con el resultante aumento de la afinidad por el oxígeno de los grupos hemo remanentes, esto no solo desvía la curva de disociación de la oxihemoglobina a la izquierda, sino que distorsiona si forma sigmoidea a una hipérbola. El resultado neto es una molécula de Hb mal equipada para liberar oxígeno a nivel tisular. La disminución del aporte de oxígeno es luego percibida centralmente, estimulando los esfuerzos ventilatorios y aumentando el volumen minuto, esto último aumenta la captación de CO y por lo tanto, los niveles de COHb, produciéndose una alcalosis respiratoria, lo que desviará aún más la curva de disociación de la oxihemoglobina hacia la izquierda. (3.10)

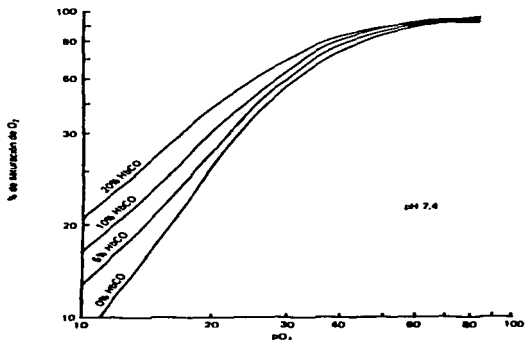


Fig. 10. Curvas de disociación del oxígeno de la sangre con diversas concentraciones de COHb (10)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El efecto tóxico del CO resulta en hipoxia de tejidos y se lleva a cabo por la disminución de la cantidad de oxígeno a los eritrocitos causando así la reducción de oxigenación en tejidos y cambiando la curva de disociación de la oxihemoglobina hacia la izquierda disminuyendo la presión parcial. Se sabe que el CO se une reversiblemente con la Hb para producir COHb y que la afinidad es mayor de 200 veces que para el oxígeno, por lo tanto inhalaciones de concentraciones relativamente bajas de CO producen clínicamente disminución significativa en la capacidad de acarreo de oxígeno por los eritrocitos. En otras palabras, una concentración de 50% de COHb puede ser acarreada cuando la concentración de CO en el aire del medio ambiente es solo 1/240 que de oxígeno, o cerca de 0.08% (800 ppm). (6)

La unión de oxígeno por la Hb muestra una relación sigmoideal con respecto a la presión parcial de oxígeno. La unión de una molécula de oxígeno produce una modificación alosterica de la proteína hemo para aumentar la unión de las tres próximas moléculas de oxígeno. (6)

El CO también interfiere con la disociación o liberación del oxígeno de la Hb, como ya se mencionó el CO cambia la curva de disociación de la oxihemoglobina hacia la izquierda, gráficamente esto quiere decir, que la asociación - disociación de oxígeno cambia la forma normal de la curva que es sigmoideal a hiperbólica. La curva sigmoideal indica que el oxígeno puede ser liberado con facilidad de la Hb cuando es necesario.

La siguiente figura muestra la inclinación de la curva en forma de S se empuja cuando la PO_2 es baja, y se nivela cuando esta presión es alta. Cuando el CO se une con la Hb y cambia la curva de disociación a la izquierda da una curva hiperbólica, menos oxígeno está disponible para los tejidos o es solo disponible a estos con baja presión de oxígeno. (6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

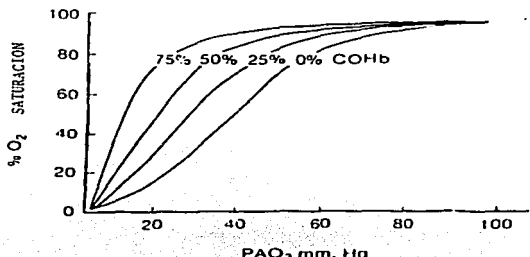


Fig. 11. Curva de disociación de la oxihemoglobina en presencia de CO. (6)

La concentración de COHb en sangre esta en función de la concentración de CO inhalado del aire, duración de esta exposición y en el volumen de la ventilación pulmonar. El CO es poco soluble en solución acuosa, pero puede tener concentraciones significativamente altas en sangre por su alta afinidad con la Hb. La siguiente tabla relaciona la concentración de CO de aire inspirado con su correspondiente porcentaje de saturación de COHb hasta llegar al equilibrio. (6)

Tabla 5. Equilibrio de la COHb a una atmósfera

CO inhalado (ppm)	COHb (% saturación)
1	0.49
10	1.94
100	14.45
1,000	62.41
10,000	94.31
100,000	99.40
900,000	99.93

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

De esta tabla la concentración de COHb, después de exponerse a una concentración conocida de CO puede ser estimada para dar un periodo de tiempo y actividad respiratoria usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ COHb} = 6 \text{ L/min.} \times \% \text{ CO} \times \text{min. de exposición}$$

Esta relación aplica para un individuo saludable, y hay varios factores que pueden influenciar el porcentaje de saturación de COHb. Los niños y personas con anemia, obstrucción pulmonar crónica, arteriosclerosis cardiovascular y otras enfermedades del corazón son más susceptibles a los efectos tóxicos del CO. (6)

2.9 TRATAMIENTO DE LA INTOXICACIÓN POR MONÓXIDO DE CARBONO

En casos de intoxicación por CO es importante llevar a la víctima a un medio con aire fresco; si ya no respira, se inicia de inmediato respiración artificial; después el tratamiento se dirige a suministrar cantidades adecuadas de oxígeno a las células corporales, y apresurar la eliminación del CO. Algunos clínicos recomiendan dar oxígeno hiperbárico (con alta presión) si se cuenta con el equipo necesario ya que este oxígeno hiperbárico además de aportar dicho gas en solución para los tejidos, también apresura la disociación de COHb. La mejor guía de normalización de la saturación de oxígeno apropiada es la función neurológica de la víctima; es posible medir las concentraciones sanguíneas de COHb como dato de apoyo, para evaluar si es eficiente la oxigenación, y los niveles sanguíneos decrecientes de COHb a menos de 10% de la saturación son un punto de corte terapéutico razonable, las medidas suplementarias incluyen corrección de la hipotensión y acidosis, así como la vigilancia continua de la función cardíaca (Tintinalli y col., 1983). (15,21)

Para estimular la eliminación del CO, conviene observar lo siguiente:

1. El oxígeno reduce la vida media de la COHb de 5-6 horas a ½ hora. El oxígeno hiperbárico la reduce 20-30 minutos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. Tratar el edema cerebral con manitol endovenoso o prednisona intramuscular o endovenosa.
3. Tratar la hipertermia con toallas frías.
4. Tratar las convulsiones con diazepam; posteriormente puede darse fenitoína.
5. Reposo en cama en un lapso de dos a cuatro semanas, para minimizar las complicaciones neurológicas tardías.

*Los bomberos deben someterse a análisis de aire espirado mediante equipo portátil después de cada exposición. (15.21)

2.10 PRONÓSTICO DE LA INTOXICACIÓN POR MONÓXIDO DE CARBONO

Si el paciente se recupera, los síntomas desaparecen gradualmente, si persiste una saturación alta por varias horas, los temblores, el deterioro mental y el comportamiento anormal, pueden continuar o reaparecer después de un periodo sintomático de una a dos semanas. Estos síntomas indican lesión del SNC y pueden ser permanentes, si los síntomas del deterioro mental siguen a lo largo de dos semanas, es poco probable que se logre una recuperación completa. (9)

Los datos sobre pronóstico en el envenenamiento por CO están inconclusos y son contradictorios, se acepta que el 30% de las personas con envenenamiento severo tienen una evolución fatal, el 11% de los que sobreviven tienen déficits neurológicos a largo plazo, incluyendo un 3% en que las manifestaciones neurológicas son tardías. Un tercio de los pacientes con envenenamiento por CO pueden tener cambios sutiles, pero alteraciones al fin, de la personalidad o de la memoria. (9)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.11 VALORES INDICATIVOS RECOMENDADOS POR LA OMS

Los siguientes valores indicativos (valores redondeados en ppm) y los periodos de exposición como promedio ponderado por el tiempo se han determinado de manera que no se supere la concentración de 2.5% de COHb, incluso cuando una persona normal realice un ejercicio ligero o moderado. (3)

100 mg/m³ (87 ppm) durante 15 min.

60 mg/m³ (52 ppm) durante 30 min.

30 mg/m³ (26 ppm) durante una hora

10 mg/m³ (9 ppm) durante ocho horas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO III
INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.1 INVESTIGACIÓN TOXICOLÓGICA

Una investigación toxicológica comprende un conjunto de procedimientos analíticos, con el objeto de aislar, identificar y determinar cuantitativamente los tóxicos que se presenten en individuos vivos o en cadáveres, con la finalidad principal de emitir un diagnóstico para esclarecer un hecho. (7)

En toxicología forense se estudian una gran variedad de muestras que van desde vísceras procedentes de una autopsia a fluidos biológicos de individuos vivos para detectar tóxico (s) bajo cuyos efectos se ha cometido un delito, o se ha sufrido un accidente, productos sospechosos como líquidos, sólidos, vegetales, etc. (7)

El análisis toxicológico médico - legal se caracteriza por la amplitud y profundidad del análisis, el tiempo aproximado de éste y la interpretación de los resultados, el toxicólogo forense debe tener la capacidad para detectar cualquier sustancia química exógena presente en el material biológico entregado para su análisis. (7)

La detección y medición de CO en muestras de sangre preferentemente, son requeridas frecuentemente en toxicología forense para la investigación de muertes en incendios, autos, etc. Sólo se debe recibir una solicitud de análisis toxicológico, cuando se ha realizado una autopsia completa, pues es así que se pueden proporcionar datos útiles para resolver algún caso; esta petición para un análisis toxicológico debe ser lo más específica posible. El toxicólogo forense se vale de dos pruebas para determinar sus resultados

1) Pruebas presuntivas

Conocidas también como pruebas de orientación. Deben ser sensibles, para que al tener resultados negativos, puedan concentrarse los esfuerzos analíticos en unos pocos grupos.

2) Pruebas confirmativas

Al sospechar que se tiene una sustancia de importancia para el análisis por las pruebas presuntivas realizadas con anterioridad, su presencia debe confirmarse por al menos dos técnicas independientes de tipo confirmativas los resultados que se obtienen son de carácter cuantitativo y deben ser consistentes, para evitar al

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

máximo las interferencias y conocer la precisión y exactitud de los métodos utilizados, estas últimas características son las que distinguen los análisis toxicológicos forenses.

En el caso de supuesta muerte por CO en una habitación, se requiere un análisis inmediato para evitar más accidentes por la presencia de este gas, o cuando la decisión judicial depende del dictamen en el caso de homicidios o suicidios. (7)

3.2 AUTOPSIA

Los cadáveres presentan piel rosada, labios y livideces con igual coloración, dando la sensación visual de que el cadáver aun tiene vida. Al abrir las cavidades se encuentra igual tonalidad rosada en las vísceras, particularmente en estómago e intestino delgado; los músculos tienen color rosa vivo; la sangre en venas y arterias presenta un color rojo grosella; cuando se toma sangre del corazón y se conserva por meses, es posible que se presenten los caracteres espectroscópicos de la COHb. En las mucosas gástricas e intestinal se pueden apreciar en ocasiones sufusiones sanguíneas, pero las lesiones características se observan en pulmones, hay edematización generalizada del páncreas pulmonar con zonas rojo vivo (edema carminado), observándose en los pulmones las manchas subpleurales y subpericardiales de Tardieu en número de 10 a 20, núcleos e infartos más o menos voluminosos, que da a los cortes aspecto atigrado. (9)

El perito legista, por las circunstancias como se produjo la muerte, podrá presuncionar si se trata de un accidente o de un suicidio; los casos de homicidio son los más difíciles de dilucidar. (9)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.3 MEDICION DE COHb EN SANGRE

Algunas técnicas para medir los niveles de detección pueden ser de importancia en el transporte de CO entre células y tejido, así los niveles de CO en sangre se representan convencionalmente como un porcentaje de la hemoglobina total disponible (por ejemplo, el porcentaje de Hb que esta en forma de COHb, o solo el porcentaje de COHb). (3)

Algunas técnicas para medir la COHb en sangre son específicas y tienen precisión y exactitud en los valores obtenidos. La mayor parte de las técnicas publicadas para medir los niveles de CO en sangre tienen propósitos forenses. (3)

Estos métodos generalmente requieren mediciones de bajas concentraciones de COHb (< 5%) el enfoque de los métodos forenses es realizar mediciones confiables en rango total de posibles valores de menos de 1% a 100% de COHb. Estos métodos propuestos son adecuados para análisis con fines forenses ya que proporcionan resultados de valores adecuados. (3)

La medición de CO en sangre puede ser realizada por una variedad de técnicas, pueden ser destructivas o no destructivas, la COHb puede ser determinada no destructivamente por observación de los cambios en el espectro de absorción en la región visible, que se presentan muy cercanos por la combinación de CO con Hb. (3)

Todos los métodos ópticos tienen limitación en la sensibilidad de aproximadamente 1% en el valor del rango esperado. Si el análisis se hace en el rango más bajo de absorbancias la sensibilidad se pierde, en los métodos espectrofotométricos descritos por Small et al. (1971), un cambio en la absorbancia para el límite de resolución de 0.01 unidad puede resultar en una diferencia de 0.6% de COHb. Por lo tanto con las técnicas ópticas no se esperan resultados muy confiables. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Métodos representativos para el análisis de CO en sangre^a

Origen	Método	Resolución ^b (ml/dl)	CV (%) ^c	Método de referencia	r ^d
Detección gasométrica Scholander & Roughton (1943)	Jeringa capilar	0.02	2-4	Van Slyke	ND ^e
Horvalh & Roughton (1942)	Van Slyke	0.03	6	Van Slyke-Neill	ND
Detección espectrofotométrica Cotburn et al. (1964)	Infrarrojo	0.006	1.8	Van Slyke-Jeringa	ND
Small et al. (1971)	Espectrofotometría	0.12	ND	Ionización flama	ND
Mnas et al. (1970)	CO-Oxímetro (IL-282)	0.21	5	Espectrofotométrico	ND
Brown (1980)	CO-Oxímetro (IL-282)	0.2	5	Ionización flama	0.999
Cromatografía de gases Ayres et al. (1966)	Conductividad Termal	0.001	2	ND	ND
Goldbaum et al. (1986)	Conductividad Termal	ND	1.35	Ionización flama	0.996
McCredie & Josó (1967)	Conductividad Termal	0.005	1.8	ND	ND
Dahms & Horvalh (1974)	Conductividad Termal	0.006	1.7	Van Slyke	0.983
Collison et al. (1968)	Ionización Flama	0.002	1.8	Van Slyke	ND
Kane (1985)	Ionización Flama	ND	6.2	CO-Oxímetro	1.00
Vroman et al. (1984)	Vapor mercurio	0.002	2.2	ND	ND

^a Modificado de US EPA (1991d).^b La resolución de cantidades pequeñas de CO detectables o las diferencias más pequeñas detectables entre muestras.^c Coeficiente de variación (CV) basado en muestra que contienen menos del 15% de COHb, donde es posible.^d Los valores de "r" es el coeficiente de correlación entre la técnica reportada y el método de referencia usado para verificar su exactitud.^e ND indica que esos valores no están disponibles. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

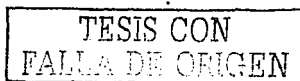
Las técnicas más sensibles (resolución superior), requieren de la liberación de CO de la Hb dentro de una fase gaseosa; el CO puede ser detectado directamente por (1) absorción infrarroja (Maas et al. 1970) siguiendo la separación usando cromatografía de gases, (2) la diferencia entre conductividad termal y un gas acarreador del CO (Ayres et al. 1966; McCredie & José, 1967; Dahms & Horvath, 1974; Goldbaum et al. 1986; Horvath et al. 1988b; Alfred et al. 1989b), (3) la cantidad de ionización que sigue a la conversión cuantitativa de CO a metano (Collison et al. 1968); Dennis & Valeri, 1980; Guillot et al. 1981; Clerbaux et al. 1984; Kane, 1985; Katsumata et al. 1985; Constantino et al. 1986) o (4) la liberación de vapores de mercurio resultado de la combinación de CO con óxido de mercurio (Vreman et al., 1984). (3)

3.4 MUESTRAS PARA ANALIZAR

La muestra de elección para realizar determinaciones de COHb es la sangre entera, anticoagulada con heparina o EDTA. Estas muestras deben recogerse en tubos o envases de vidrio, con tapón o cierre de PTFE. Evitar el uso de tapones de goma porque pueden adsorber algunas sustancias o contaminar la muestra. (4, 10)

3.5 MANEJO DE LA MUESTRA

El CO que se encuentra en la Hb es relativamente estable que puede ser disociado por exposición a oxígeno o a radiación UV (Horvath & Roughton, 1942; Chace et al., 1986). Si la muestra de sangre se mantiene en un lugar oscuro y fresco, condiciones estériles, el CO que contiene permanecerá estable por un largo periodo de tiempo. Varios investigadores han reportado que no disminuye en porcentaje la COHb después de 10 días (Collison et al., 1968), 3 semanas (Dahms & Horvath, 1974), 4 meses (Ocak et al., 1985) y 6 meses (Vreman et al., 1984). La estabilidad propia del CO en condiciones de almacenamiento de la muestra no indica que los valores constantes puedan ser obtenidos por todas las técnicas de análisis. Los métodos espectrofotométricos son particularmente susceptibles a



cambios en la calidad óptica de la muestra, resultando en pequeños cambios en COHb almacenada (Allred et al., 1989b). (3)

Por lo tanto, el cuidado necesario para hacer determinaciones de COHb, depende de que técnicas sean utilizadas. (3)

La muestra debe recogerse con cuidado para evitar la hemólisis y debe analizarse pronto debido a que ciertos pigmentos anormales desaparecen si se inicia algún tratamiento. Ante la sospecha de la existencia de CO, se empleará citrato sódico seco en tubos pequeños y bien tapados. (13)

3.6 CONSERVACIÓN DE LAS PRUEBAS

Si en el laboratorio se recibieron muestras sospechosas de provenir de envenenamiento, se deben guardar pruebas que sean importantes para la identificación del veneno. Los recipientes usados para conservar muestras deben estar perfectamente limpios y libres de cualquier contaminación con sustancias químicas o metales. Es preferible no utilizar bajo ninguna circunstancia recipientes que hayan sido usados previamente para guardar sustancias químicas o muestras patológicas. Un recipiente de vidrio transparente con tapa de plástico o metal con forro de papel encerado y grueso es adecuado. El recipiente debe ser bien sellado y rotulado con papel engomado, que se extienda sobre la cubierta y los lados del recipiente, es importante evitar usar sellos como tela adhesiva, ya que pueden ser removidos y vueltos a poner. (1)

Si el análisis no se puede realizar inmediatamente, el material debe almacenarse en unidades de congelación, evitando el uso de conservadores, ya que pueden enmascarar sustancias químicas de importancia toxicológica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1. **Pruebas que deben guardarse en caso de envenenamiento no mortal:** En el caso de intoxicación por CO solo es necesario guardar una muestra de sangre de 10 - 50 mL.
2. **Pruebas que deben guardarse en caso de envenenamiento mortal:** La necropsia debe ser practicada antes del embalsamiento porque la sangre obtenida durante éste se contaminará con el líquido para embalsamar. En este caso se deben extraer de 50 a 100 mL de sangre. Además pueden tomarse: médula ósea, vísceras macizas y músculo.
3. **Cadena legal de custodia:** En casos de envenenamiento, en los que las muestras son de importancia legal, se debe tener cuidado en seguir la "cadena de custodia" de tal manera que cada persona que tenga responsabilidad del material pueda firmar que este no ha sido contaminado o cambiado. (1)

3.6.1 PROBLEMAS ESPECIALES EN INTOXICACIONES POR MONÓXIDO DE CARBONO

Suicidio consumado. Si una persona se suicida, las pruebas de este acto pueden tener importancia legal considerable, y el toxicólogo forense será llamado para justificar sus declaraciones mediante observaciones y registros escritos.

Envenenamiento homicida. En el caso de estos envenenamientos, también tienen importancia legal, por lo tanto el resultado del análisis por parte del toxicólogo forense es de gran importancia.

También son importantes los resultados de análisis toxicológicos en casos de envenenamientos accidentales y ocupacionales por las implicaciones legales que estas puedan tener. (1)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7 METODOS DE REFERENCIA

La exposición al CO resulta en niveles de COHb entre 0.1 y 0.2% por cada miligramo de CO por metro cúbico de aire (partes por millón). Una técnica de referencia para medir la COHb puede ser capaz de discriminar entre dos muestras de sangre con una diferencia de 0.1% de COHb (aproximadamente 0.02 mL/dL), para completar esta tarea, el coeficiente de variación (desviación estándar de mediciones repetidas en cualquier muestra dividida por las medias de los valores) del método puede ser menos que el 5%, así que los dos valores que son diferentes por 0.1% pueden ser estadísticamente probado. En términos prácticos un método de referencia puede tener la sensibilidad para detectar aproximadamente 0.025% de COHb. (3)

La medición exacta de la COHb requiere de cuantificación del contenido de CO liberado de la Hb en la sangre. Las mediciones basadas en métodos ópticos tienen limitaciones de resolución y especificidad debido a la interferencia potencial de algunas fuentes. Las técnicas que pueden ser usadas como métodos de referencia comprenden la cuantificación de CO liberado de la hemoglobina seguido por la medición de la cantidad de CO liberado. Clásicamente esta cuantificación es medida manométricamente con un aparato Van Slyke (Horvath & Roughton, 1942) o con una jeringa Roughton-Scholander (Roughton & Root, 1945). Estas técnicas se han usado como "Estándar de Oro" por casi 50 años. De cualquier modo, también tienen limitaciones de resolución con bajos rangos de COHb. La metodología estándar gasométrica es reemplazada con extracción head space (espacio de cabeza) seguido por el uso de fase sólida con separación en cromatografía de gases con diferentes tipos de detección: conductividad termal, ionización por flama y reducción de vapores de mercurio. El CO en el head space puede ser cuantificado por detección infrarroja, el cual puede ser calibrado con un gas estándar. De cualquier modo, no existe un acuerdo general sobre que método es más sensible para analizar el CO y cual o cuales son aceptados como métodos de referencia. (3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las siguientes técnicas cumplen con los requerimientos para usarse como métodos de referencia:

- (1) **Detección por ionización en flama:** Esta técnica requiere la separación del CO de otros gases por head space y la reducción del CO a metano por reducción catalítica.
- (2) **Detección por conductividad termal:** Esta técnica usa extracción al vacío del CO de la sangre en un aparato Van Slyke y separación por cromatografía de gases por análisis del CO con conductividad termal.
- (3) **Detección Infrarroja:** Esta técnica usa un método para extraer el CO de la sangre bajo condiciones atmosféricas normales y entonces es cuando se inyecta el gas al head space dentro de un analizador infrarrojo. (3)

La forma convencional de representar la cantidad de CO en una muestra de sangre es el porcentaje de COHb: el porcentaje del total de la capacidad de combinación del CO que esta en la forma de COHb. Es determinada convencionalmente usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ COHb} = [\text{CO contenido}/(\text{Hb} \times 1.389)] \times 100$$

Donde el CO contenido es la concentración de CO, medido en mililitros por decilitro de sangre en condiciones estándar de temperatura y presión; Hb es la concentración de hemoglobina, medida en gramos por decilitro de sangre; y 1.389 es la capacidad combinante estequiométrica del CO por la Hb en unidades de mililitros de CO por gramo de Hb en condiciones estándar de temperatura y presión, en la practica un valor de 1.36 mL de CO/g de Hb es usado por la capacidad de oxigenar de la sangre normal humana porque es imposible llevar a cabo una saturación de Hb al 100%. (3)

Los métodos analíticos que cuantifican el CO contenido en sangre requieren la conversión de esta cantidad a por ciento de Hb. El producto de la Hb y la capacidad combinante teórica (1.389, acordado por el Comité Internacional de Estandarización en Hematología, 1978) para producir el CO. Con el uso de la capacidad y la medición del contenido, el porcentaje de la capacidad del CO (porcentaje de COHb)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

es calculado. Es absolutamente indudable la exactitud de la medición de la Hb, los valores teóricos pueden ser rutinariamente comprobados por medición directa (validación interna) de la Hb - capacidad combinante del CO. La capacidad total de combinación del CO - Hb puede ser determinada también precisamente como el contenido de CO. El error de las técnicas que miden el contenido de CO es dependiente del error en el análisis de Hb para el dato final, porcentaje de COHb. Por lo tanto la actual capacidad de combinación de CO - Hb puede ser medida y comparada con el valor calculado basado en el método de referencia para medir Hb. La medición de la capacidad de combinación de CO - Hb puede ser realizada rutinariamente por equilibración de una muestra de sangre con CO (Allred et al., 1989b). (3)

Los métodos estándar para medir Hb comprenden la conversión de todas las especies de Hb a cianometahemoglobina con el uso de una mezcla de ferricianuro de potasio, cianuro de potasio y bicarbonato de sodio. (3)

3.8 METODOS DE EXTRACCION

Desde el punto de vista analítico, los tóxicos son divididos en cuatro grupos dependiendo de los procedimientos que se necesiten para su extracción, que a su vez dependen de sus propiedades físico - químicas. El CO, objeto de esta investigación, se encuentra dentro del grupo I: "Tóxicos gaseosos".

El análisis de gases no es simple; habitualmente se investiga la presencia de un gas determinado para comprobar si un individuo sufrió los efectos de un gas tóxico. Dicho análisis se centra en la sangre que debe contener el gas, como el CO que puede analizarse directamente mediante extracción y análisis posterior, o también de manera indirecta analizando la COHb. (7)

La extracción de los gases de la sangre se realiza valiéndose de las leyes físicas, según las cuales su solubilidad disminuye o se anula al elevar la temperatura, bajar

la presión, o la combinación de ambos, especialmente la sangre donde un calentamiento excesivo provoca que se coagule o altere. (7)

3.9 TOXICOS DEL GRUPO I: GASES

La presencia de este grupo de tóxicos es usualmente indicado, por las circunstancias que presentan los incidentes, además actualmente la identificación de algún gas comprende con frecuencia lo indicado por las evidencias circunstanciales. Estas pueden ser la escena del incidente, testimonios, características propias de estas intoxicaciones. De cualquier modo se necesita relativamente poca información para realizar una cuidadosa investigación. (7)

Tabla 7. Tóxicos del grupo 1: Gases

<i>Indicaciones</i>	
Síntomas	Apnea, asfixia, disnea, vomito; color rojo o rojo rosado (CO. o cianuro)
Síntomas inmediatos	síntomas de enfermedad o muerte muy rápidos.
Escena	En hospitales por cirugías (gases para anestesia), industrias, minas, víctimas en espacios cerrados, barcos, autos, cocinas.
Ocupación	Industria química, galvanizado, fumigación, hornos, fabricas de resinas, lavandería, joyería, tratamiento de metales en minas, fotografía, alcantarilla, curtidores.
Investigaciones adicionales	Revisión del equipo o vehículo. Revisión de la ropa, si existen manchas o si se perciben algún olor. Análisis post mortem de pulmón y cerebro.
<i>Análisis</i>	
Olor	CO, cianuro.
Prueba de color	Leer directamente en un indicador colorimétrico en tubo (tubos Draeger)
Métodos generales	Difusión en cámara de Conway, para cianuro cromatografía de gases por Head - space, espectrofotometría.
Intoxicaciones comunes	Por CO o cianuro.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

3.10 PRUEBAS PRESUNTIVAS.

MICRODIFUSIÓN.- Procedimiento que permite el aislamiento y detección de tóxicos rápida y fácilmente. El dispositivo usado comúnmente es la "Cámara de Conway" la cuál consiste en dos cajas de petri concéntricas, con una base común. La muestra se agrega en el compartimento exterior y el absorbente o disolvente, según sea el caso en el interior. Posteriormente se cierra herméticamente con una tapadera de vidrio, el cuál sobre su borde esmerilado se debe aplicar una película fina de silicona, o alguna grasa similar para obtener un cierre perfecto. Las determinaciones realizadas por este procedimiento requieren de 1 mL de muestra normalmente. (22,32)

1) MICRODIFUSION PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE CO (Feldstein y Klendshoj) *

Reactivos:

1. Solución de Cloruro de paladio ($PdCl_2$), disolver 0.222g en HCl 0.01 N, 250 mL
2. Ácido sulfúrico 10% v/v
3. Goma arábiga 0.1% p/v
4. Yoduro de potasio 15% p/v

Técnica:

En el compartimento interno de la cámara se colocan 2 mL de solución de cloruro de paladio; en el compartimento externo se agregan 2 mL de ácido sulfúrico (sellador) y en el medio se agrega 1 mL de sangre y 1 mL de ácido sulfúrico. Se tapa y se deja incubando 1 hora a temperatura ambiente, si no cambia el aspecto de la solución de cloruro de paladio la prueba es negativa.

Cuando existe CO aparece en la superficie de la solución del compartimento medio una película fina plateada de tono metálico, que se debe a la siguiente reacción.

*El CO reduce el cloruro de paladio a paladio metálico:



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

3.10 PRUEBAS PRESUNTIVAS.

MICRODIFUSIÓN.- Procedimiento que permite el aislamiento y detección de tóxicos rápida y fácilmente. El dispositivo usado comúnmente es la "Cámara de Conway" la cuál consiste en dos cajas de petri concéntricas, con una base común. La muestra se agrega en el compartimento exterior y el absorbente o disolvente, según sea el caso en el interior. Posteriormente se cierra herméticamente con una tapadera de vidrio, el cuál sobre su borde esmerilado se debe aplicar una película fina de silicona, o alguna grasa similar para obtener un cierre perfecto. Las determinaciones realizadas por este procedimiento requieren de 1 mL de muestra normalmente. (22,32)

1) MICRODIFUSION PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE CO (Feldstein y Klendshoj) *

Reactivos:

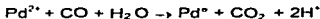
1. Solución de Cloruro de paladio (PdCl_2), disolver 0,222g en HCl 0.01 N, 250 mL
2. Ácido sulfúrico 10% v/v
3. Goma arábiga 0,1% p/v
4. Yoduro de potasio 15% p/v

Técnica:

En el compartimento interno de la cámara se colocan 2 mL de solución de cloruro de paladio; en el compartimento externo se agregan 2 mL de ácido sulfúrico (sellador) y en el medio se agrega 1 mL de sangre y 1 mL de ácido sulfúrico. Se tapa y se deja incubando 1 hora a temperatura ambiente, si no cambia el aspecto de la solución de cloruro de paladio la prueba es negativa.

Cuando existe CO aparece en la superficie de la solución del compartimento medio una película fina plateada de tono metálico, que se debe a la siguiente reacción.

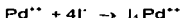
*El CO reduce el cloruro de paladio a paladio metálico:



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuando es tratado con ácido sulfúrico, la COHb producida en envenenamientos con CO libera este gas con el cual se puede identificar, esta prueba detecta aproximadamente un 10% de COHb. (32)

Además la solución positiva se puede extraer y centrifugar, para después transferirla 0.1 mL del sobrenadante a un matraz de 10 mL. En otro matraz seco se coloca 0.1 mL de cloruro de paladio (blanco) y se agrega a cada uno 1 mL de goma arábiga al 0.1%, 1 mL de yoduro de potasio y se afora. El exceso de paladio origina con el yoduro un complejo que absorbe a 500 nm:



2) PRUEBA CUALITATIVA (A)

Se trata de una prueba sencilla que permite reconocer la transformación en COHb de 25% de la Hb circulante o más.

1. Dos tubos de ensayo de 15 x 1.6 cm se rotulan "problema " y "control".
2. En cada tubo se colocan 15 mL de solución de amoniaco al 0.4% v/v.
3. Al tubo problema añadir 0.05 mL de sangre del intoxicado o del cadáver, recogida con anticoagulante, mezclar por inversión.
4. Al control añadir 0.05 mL de sangre normal bien oxigenada, mezclar.
5. Si el 25% de la Hb del intoxicado o más se encuentra en forma de COHb, el tubo problema muestra un color cereza muy claro y característico cuando se observa contra un fondo blanco, en contraste con el color rojo pardusco que muestra el control. (12)

3) PRUEBA CUALITATIVA (B)

1. Se preparan diluciones de sangre normal y del paciente, igual que en la prueba A, pero con 5.0 mL de agua destilada y 0.1 mL de sangre.
2. Ambos tubos se colocan en un baño de agua hirviendo por exactamente un minuto.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

3. Se examinan los tubos; si el problema muestra un color pardo rosado, y el control un color pardo grisáceo, el primero contiene COHb. (12)

4) PRUEBA CUALITATIVA (C)

Con el examen a simple vista de una sangre diluida (una gota en 5 mL de agua), se ve un color rojo amarillento de oxihemoglobina (O_2 Hb) y un color de rosado a azul de la COHb. (13,22)

5) PRUEBA CON ÁLCALI

Se ponen en la placa de observación dos gotas de sangre normal y dos gotas de la muestra problema y se aplican a cada porción 2 gotas de hidróxido de sodio al 25%. La COHb no cambia, la sangre normal toma un color castaño. (13)

6) PRUEBA DE KATAYAMA (1888).

Con esta sencilla prueba se identifica la COHb. Puede detectar una saturación tan baja como del 10%. Se colocan unos 10 mL de agua en cada uno de dos tubos de ensayo; a uno de los tubos se añaden 5 gotas de la sangre problema y al otro 5 gotas de sangre normal para que sirva de control, se mezcla suavemente y se acidifica ligeramente con ácido acético. El color de la sangre que contiene COHb toma un color rojo rosado según sea la concentración del CO, la sangre normal toma un color castaño verdoso sucio. (13)

7) REACCIÓN CON FERROCIANURO DE POTASIO *

Material.

- Tubos de ensayo
- Pipetas graduadas de 10 mL
- Gradilla para tubo de ensayo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Reactivos.

- Ácido acético 1:3
- ferricianuro de potasio 2%
- Sangre diluida 1:5

Procedimiento.

1. En un tubo de ensaye colocar 5 mL de solución de ferricianuro de potasio al 2% y 1 mL de ácido acético 1:3.
2. En un tubo colocar sangre testigo y en otro la sangre problema, ambas diluidas 1:5
3. Adicionar a cada tubo, la solución de ferricianuro de potasio más el ácido acético y observar.

Interpretación de resultados

La prueba se considera "POSITIVA" cuando al adicionar la solución de ferricianuro de potasio y ácido acético a la sangre problema, se produce un color rojo escarlata, con una baja densidad por la falta de coagulación.

La prueba se considera "NEGATIVA" cuando se produce un color café. La coloración del testigo debe ser también café. (32)

8) REACCIÓN CON HEMATIZANTES O METAHEMOGLOBINIZANTES *

Material.

- Pipetas graduadas de 5 mL
- Vidrio de reloj
- Placa de porcelana

Reactivos.

- Agua destilada
- Como reactivo puede utilizarse alguno de los siguientes:
 Reactivo de Hoppe – Seyler (hidróxido de sodio de densidad 1:3)
 Reactivo de Kunkel (solución de tanino al 1%)
 Reactivo de Stockis (solución de cloruro de zinc al 10%)

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Reactivo de Liebmann (solución de formol al 10%)

Reactivo de Coronedi (se mezclan en el momento 3 mL de una solución saturada en frío de sulfato de hidracina y 1 mL de acetato sódico al 10%).

Procedimiento.

En este tipo de reacciones se trata la sangre por agentes hemalizantes o metahemoglobinizantes; la reacción se lleva a cabo en un vidrio de reloj o en un pocillo de porcelana. Se ponen unas gotas de sangre algo diluida y se añade el reactivo.

Interpretación de resultados.

Cuando la sangre contiene oxihemoglobina, se produce un vire de color a pardo achocolatado, a veces forma grumos. La sangre que tiene COHb no cambia de color o lo puede hacer pero lentamente. (32)*Técnicas presuntivas usadas por la PGJ, tomadas del manual de procedimientos de la Procuraduría General de Justicia.

9) PRUEBA DIRECTA EN SANGRE PARA COHb

Diluir una muestra de sangre 1:20 con solución de amonio 0.01N y comparar el color con una muestra de sangre normal tratada similarmente. Una coloración rosa indica la presencia de COHb. (7)

10) PRUEBA RÁPIDA APROXIMADA (a)

Se añaden unas pocas gotas de NaOH al 40% (40g/dL) a sangre con anticoagulante EDTA y se calienta suavemente. Si está presente la COHb aparece un color rojo, mientras que si está presente la oxihemoglobina se produce un cambio de coloración negro-parduzco. (22)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

11) PRUEBA RÁPIDA DEL ÁCIDO TÁNICO (b)

Se diluye la sangre cuatro veces en agua, se añaden tres volúmenes de solución de ácido tánico al 1% (1g/dL) y se mezcla. La COHb produce un precipitado rojo, mientras que la oxihemoglobina produce un precipitado marrón grisáceo. (22)

3.11 MÉTODOS PARA DETERMINAR SEMICUANTITATIVAMENTE LA COHb

1) MEDICIONES DE COHb CON EL CO-OXIMETRO

La velocidad de medición y la relativa exactitud de las mediciones espectrofotométricas sobre el rango total de valores esperados condujeron al desarrollo del CO-Oximetro. Este instrumento utiliza de dos a siete longitudes de onda en la región visible para la determinación de proporciones de oxihemoglobina, COHb, Hb reducida y metahemoglobina. La proporción de cada especie de Hb es determinada de la absorbancia y el coeficiente de extinción molar presente en las longitudes de onda. (3)

Todos los instrumentos comercialmente disponibles dan resultados rápidos para todas las especies de Hb que puedan ser medidas. La precisión en las medidas de estos instrumentos es excelente pero es importante mencionar que a bajos niveles de COHb, la habilidad de estos instrumentos para medir el porcentaje de COHb es limitada. Este instrumento se utiliza para obtener con rapidez los resultados, ya que es un instrumento que funciona según los principios que se relacionan con los distintos espectros de las especies de Hb. Un instrumento de este tipo es el CO - Oximetro IL 482 (Instrumentation Laboratories, Lexington MA). (3,4)

El IL 482 toma determinaciones espectrofotométricas directas a cuatro longitudes de onda (Fig. 9) y calcula el porcentaje de COHb, oxihemoglobina y Hb total que se calculan mediante una serie de ecuaciones. Se ha demostrado que los resultados

que se obtienen con este instrumento se correlacionan bien con el método manual espectrofotométrico tradicional. (4)

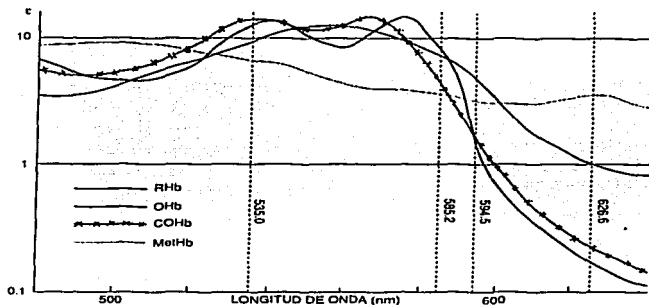


Fig. 12. Espectros de absorbanza de oxihemoglobina (HbO), hemoglobina reducida (RHb), carboxihemoglobina (COHb) y metahemoglobina (MetHb). Empleando el CO - Oxímetro modelo 482, se efectuaron determinaciones en sangre entera diluida a 535, 585, 594 y 626 nm. A continuación las cuatro absorbanzas se multiplicaron por una "matriz de coeficientes" para determinar las concentraciones relativas de Ohb, COHb y MetHb. (Tomado del IL 482 CO - Oxímetro, instrumentación Laboratories, Lexington MA.)

2) MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

La mayoría de estas técnicas se basan en la detección óptica de la COHb, la cual es más rápida que las técnicas de referencia porque no se tiene que hacer extracción del CO de la muestra de sangre. Estas mediciones directas también son

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

capaces de medir simultáneamente varias especies de Hb, incluyendo Hb reducida, oxihemoglobina (O_2 Hb) y COHb. Las limitaciones de las técnicas espectrofotométricas fueron revisadas por Kane (1985). Los métodos ópticos que utilizan longitud de onda ultravioleta (UV) requieren dilución de la muestra de sangre, lo cual puede conducir a una pérdida de CO como resultado de la competencia con el oxígeno disuelto en solución. Removiendo el oxígeno disuelto con ditionito puede resultarnos en la formación de sulfahemoglobina, la cual interfiere con la medición de COHb (Rai & Minty, 1987). Otra limitación es que la máxima absorción (y la curva espectral) no es precisamente consistente entre individuos. Esto puede ser debido a escasas variaciones en los tipos de Hb en las personas, por estas razones, las técnicas usadas utilizando longitudes de onda fijas, pueden dar mediciones no esperadas, precisas o específicas como es el propósito de los métodos de referencia mencionados anteriormente. (3)

Los métodos manuales que se emplean más frecuentemente utilizan las diferencias espectrales de diferentes especies de Hb y se basan en el método de Tietz y Fioreck, en el cual un hemolisado de sangre entera se trata con hidrosulfito de sodio (ditionita), que reduce la oxihemoglobina y la metahemoglobina pero no es capaz de reaccionar con la COHb, por lo tanto, en la muestra solo queda COHb y Hb reducida. Estas dos especies tienen absorbancias similares a la longitud de onda de 555 nm pero la COHb tiene mayor absorbancia que la Hb reducida a 541 nm. La absorbancia del hemolisado se determina a estas dos longitudes de onda y la relación (A_{541} / A_{555}) presenta una relación lineal con respecto a la concentración relativa de COHb. (3,4)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

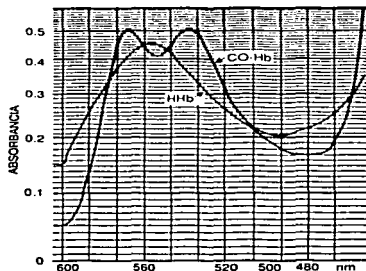


Fig. 13. Espectro de absorbancia de la COHb y Hb reducida. En el método CO - Hb de Tlotz y Fierock se realizan determinaciones a 555 nm en donde las dos especies presentan absorbancias similares y a 541 nm donde la COHb tiene mayor absorbancia.

DETERMINACIÓN ESPECTROSCÓPICA. Los espectros de absorción de la O_2Hb y de la COHb, están formados por 2 bandas oscuras situadas entre el amarillo y el verde, de dimensiones y localización muy similares. Sin embargo, ambos espectros tienen comportamientos diferentes cuando las dos formas son tratadas con un agente reductor, debido a que la O_2Hb y la hemoglobina reducida, dan un espectro que tiene una banda única, ancha, el cual ocupa tanto espacio como las dos anteriores juntas. En tanto que el espectro de la COHb no se modifica al adicionar el agente reductor.

Como reductores se pueden emplear el sulfhidrato amónico o el hidrosulfito sódico en solución alcalina (disolver 2 g de hidrosulfito en 5 mL de solución de potasa al 10% a la cual se le adiciona 1 mL de alcohol; es importante mencionar que la solución debe ser reciente). La reacción se lleva a cabo con una solución al 1% en agua destilada de la muestra de sangre que se analiza.

NOTA: Puede añadirse directamente a la solución diluida de sangre 50 mg de hidrosulfito en polvo.

Procedimiento.

1. Se realiza el espectro de la muestra problema y se comprueba la presencia de las dos bandas.
2. Dejar pasar de 10 a 15 minutos, añadir unas gotas del reductor y volver a examinar.

Recomendaciones.

- Debe prepararse un control con sangre normal siempre.
- El método es poco sensible y solo permite apreciar proporciones importantes de COHb. Por lo tanto cuando la reacción es positiva se tiene la certeza de que esta presente el CO en la muestra de sangre en cantidad suficiente para considerarla tóxica, en cambio cuando el resultado es negativo, no es posible excluir la presencia de CO en dicha muestra.

2-A) El siguiente método se basa en los siguientes, E. J. Van Kampen y H. Klouwen, *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 1954, 98, 161-164, y *Rec. Chim. Des Pays Bas.* 1954, 73, 119-128.

El método depende del hecho de que la sangre a analizar contenga varias formas de Hb, por ejemplo, la forma reducida, la forma oxigenada y una pequeña cantidad de metahemoglobina. Si un agente reductor tal como el ditionito de sodio se adiciona a la sangre, ambas formas la oxigenada y la metahemoglobina son cuantitativamente convertidas a la forma reducida, la cual tiene el espectro visible B que se observa en la siguiente figura.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

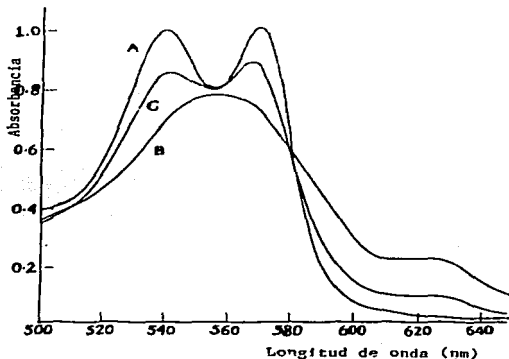


Fig. 14. Espectro ultravioleta de (A) COHb, (B) Hb reducida, y (C) muestra de sangre de un paciente envenenado con CO. (7)

Como ya se mencionó, el CO tiene más grande afinidad por la Hb que la que tiene el oxígeno, y la COHb no es reducida por el ditionito de sodio. Así cuando la muestra es tratada con ditionito de sodio la COHb lo retiene en forma normal y presenta en el espectro picos gemelos como los señalados en A. La longitud de onda de absorción máxima es diferente del espectro A y B que está en 540 nm, mientras que a 579 nm el espectro tiene la misma absorción (punto isobéptico). El porcentaje de saturación del CO de una muestra de sangre puede ser calculado de mediciones de absorciones de las longitudes de onda de la muestra de CO saturado (A), la muestra de CO libre (B), y la muestra sin tratar (C). Después de la reducción de cada uno con ditionito de sodio. (7)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Método:

1. Diluir 0.2 mL de la muestra de sangre (bien mezclada) con 25 mL de una solución de amonio al 0.1%.
2. Dividir la solución restante de forma equitativa en tres tubos rotulados con A, B y C.
3. Saturar la solución A con CO por burbujeo de este gas a través de un recipiente ancho y con poco movimiento para que se produzca lo menos posible de espuma, un burbujeo de pocos minutos es suficiente.
4. Saturar la solución B con oxígeno puro por 10 minutos para desplazar de esta todo el CO.
5. Adicionar una pequeña cantidad de ditionito de sodio a cada una de las soluciones A, B y C, y también a 10 mL de solución de amonio al 0.1% y mezclar bien.
6. Usar de blanco la solución de amonio y establecer la longitud de onda entre 500 y 650.
7. Se realiza un barrido entre estas longitudes a las muestras.
8. Repetir las mediciones previo lavado de las celdas.
9. Se mide la absorbancia de cada solución a 540 y 579 nm.

*Si la muestra de sangre analizada proviene de una persona muerta por inhalación de CO, se obtendrá un espectro como el mostrado.

Las medidas de absorbancia de cada solución a 540 y 579 nm se usan para calcular la relación de absorbancia a 540 nm para ese a 579 nm de cada una de las soluciones A, B y C. El porcentaje de saturación de COHb se calcula de la siguiente forma:

$$\% \text{ saturación} = \text{relación de C} - \text{relación de B} / \text{relación de A} - \text{relación de B} \times 100$$

NOTA. A la relación de absorbancia también se le conoce como radio de absorbancia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Valores normales aproximados para las relaciones de absorbancia son:

COHb saturada = 1.5

Hb reducida = 1.1

Nota: La Hb contenida en sangre puede variar y por lo tanto, el volumen de diluyente también. Una dilución que da un máximo de absorbancia cerca de 1 es ideal.

Estas técnicas se basan en la capacidad que tienen las moléculas y los átomos de absorber radiaciones de diferente longitud de onda, característica para cada sustancia, utilizando la energía de dichas radiaciones (h) para producir cambios energéticos en su estructura. En los átomos estos cambios se refieren exclusivamente a transiciones electrónicas, en las moléculas los cambios energéticos se deben a movimientos electrónicos, así como a movimientos de vibración y rotación de las moléculas. Este método nos permite cuantificar CO y COHb por relación entre las absorbancias a 576 y 560 nm, que es 1.8 si el 100% es HbO₂ y 0.8 si ese 100% corresponde a la COHb. La lectura a 555 antes y después de agregar un agente reductor. (7)

2-B) MÉTODO DE HARTRIDGE CON EL ESPECTROSCOPIO DE INVERSIÓN

Fundamento. Las longitudes de onda de máxima absorción luminosa en las bandas muy claras α y β del espectro de la COHb.

Se encuentran 60 unidades Å más cerca del extremo violeta del espectro que las de oxihemoglobina. En una solución que contenga ambas (COHb y oxihemoglobina), la longitud de onda de las bandas de absorción tiene valores intermedios que dependen de las proporciones relativas que tengan dichos compuestos; el desplazamiento en la longitud de onda de la banda α de la mezcla, en comparación con la de una solución de oxihemoglobina pura es una medida del porcentaje de saturación de Hb con CO.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Método (Harrison). El espectroscopio de inversión se monta en un cuarto oscuro.

1. Se preparan diluciones al 1 por 300 de la sangre problema y de una sangre normal bien oxigenada, utilizando amoniaco al 0.4% v/v.
2. Se llenan dos celdas idénticas de vidrio, planas, rotuladas convenientemente, para paso de luz de 1 cm, con las diluciones respectivas.
3. La celda control se coloca en posición en el haz de luz y después se ajusta la fuente luminosa y diafragma iris hasta que los espectros superpuestos presenten la misma brillantez las bandas de absorción estén bien delimitadas y el espacio que separan las bandas α y β sea más o menos igual a la anchura de la banda α . Si las bandas son demasiado difusas o demasiado densas, deben prepararse soluciones de sangre más concentradas o más diluidas. Una vez ajustada la fuente luminosa y el diafragma iris, deben quedarse así durante todo el análisis.
4. Se hace girar el tambor micrométrico calibrado hasta que las bandas α de los espectros superior e inferior coincidan; se registra la lectura del tambor en unidades angstrom (Å). Debe estar entre 5776 y 5780 Å.
5. Se retira la celda control y se coloca la celda problema.
6. Si existe COHb, las bandas α ya no coinciden.
7. Se hace girar el tambor micrométrico hasta que las bandas α vuelvan a coincidir, y se registra la lectura.
8. Se repiten los pasos 4 y 7, al menos tres veces.
9. Se restan las lecturas del problema de las lecturas correspondientes del control.
10. Se calcula la medida de las diferencias, y este valor se lleva a la curva de calibración para obtener el porcentaje de Hb saturada con CO.

Curva de calibración.

1. Se preparan 200 mL de una dilución al 1: 150 de sangre normal oxalataada en una solución de amoniaco al 0.4 % v/v. En dos embudos de separación de 500 mL, rotulados con COHb y O₂ Hb, se ponen 50 mL de la dilución en cada uno.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- El aire del embudo O_2 Hb se reemplaza por oxígeno puro de un tanque. Se tapa y se satura la Hb de oxígeno haciendo girar suavemente el embudo hasta que la sangre forme una capa delgada.
- De manera similar se satura la Hb del embudo COHb con CO .
- Para la preparación de la curva de calibración, las celdas de vidrio que se utilizan en la prueba se rotulan A y B y se ponen una detrás de la otra en el trayecto del haz de luz del espectroscopio de inversión.
- Se preparan las soluciones patrón del cuadro siguiente:
- Se pone en las correspondientes celdas el primer par de patrones (0% de COHb); se mide la longitud de onda de la banda α con la mayor exactitud posible, igual que en los pasos 3 y 4, se registra el valor medio.
- Se repite el procedimiento con los demás pares de patrones.
- Se restan las lecturas medias conseguidas con los patrones 2 a 5 del valor medio del patrón 1.

PARA LA CELDA A

PARA LA CELDA B

	% de COHb	mL de sol. de COHb	mL de amoníaco al 0.4%	mL de sol. de O_2 Hb	mL de amoníaco al 0.4%
1.	0	-	20	20	-
2.	25	5	15	15	5
3.	50	10	10	10	10
4.	75	15	5	5	15
5.	100	20	-	-	20

- Se construye una gráfica con las concentraciones de COHb en las abscisas y las diferencias obtenidas (unidades \AA) en las ordenadas.
- Lo ideal es que la curva patrón se prepare con la sangre del paciente mismo cada vez, pero en la mayor parte de los estudios de este tipo es más importante obtener rápidamente una información útil para el analista que resultados de gran exactitud.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Preparación del CO. Un matraz de 500 mL recibe un embudo de llenado y un tubo de salida para el gas. En el matraz se ponen 100 mL de ácido fórmico al 97%, se deja caer rápidamente por el embudo ácido sulfúrico concentrado hasta que el contenido del matraz alcanza unos 60°C, luego se vierte más lentamente para que prosiga la reacción. Se dejan pasar algunos minutos para que el CO desplace el aire del matraz, y se lleva el tubo de salida de gases al embudo de separación que contiene la sangre diluida, de forma que el chorro de CO desplace el aire del embudo. Se tapa el embudo, se deja de verter ácido sulfúrico y se espera a que termine la liberación de CO. (12)

NOTA. Es de vital importancia que esta manipulación sea realizada bajo una campana de extracción, estando el ventilador encendido, la puerta de la campana debe mantenerse lo más abajo posible.

2-C) MEDICIÓN DE COHb DE LA SANGRE (Whitehead y Worthington, 1961)

Fundamentos. En una muestra de sangre que contenga simultáneamente O₂ Hb y COHb, la primera variedad puede precipitarse mediante calentamiento controlado de pH 5.28, en tanto que la segunda variedad sólo disminuye en 20% aproximadamente por efecto de este tratamiento. La absorbancia de la COHb que queda en el filtrado se compara con la del volumen de sangre problema con CO.

Método.

1. En un tubo de ensayo mezclar 1.0 mL de sangre completa bien mezclada y 9.0 mL de solución salina isotónica.
2. Se centrifuga por 5 minutos, se elimina lo más posible el líquido sobrenadante, que se descarta.
3. Se repite el lavado con otro volumen de 9.0 mL de solución salina, y de vuelve a desechar el líquido sobrenadante.
4. Se añaden 4.5 mL de agua destilada a los glóbulos lavados, y se mezcla; se pasa 1.0 mL de la suspensión a un tubo previamente rotulado como problema.
5. Lo que resta de esta mezcla de agua con glóbulos se pasa a un matraz Erlenmeyer de 100 mL, y se hace burbujear CO en el líquido por un minuto. Este paso debe realizarse bajo una campana de extracción, con un adecuado

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Preparación del CO. Un matraz de 500 mL recibe un embudo de llenado y un tubo de salida para el gas. En el matraz se ponen 100 mL de ácido fórmico al 97%, se deja caer rápidamente por el embudo ácido sulfúrico concentrado hasta que el contenido del matraz alcanza unos 60°C, luego se vierte más lentamente para que prosiga la reacción. Se dejan pasar algunos minutos para que el CO desplace el aire del matraz, y se lleva el tubo de salida de gases al embudo de separación que contiene la sangre diluida, de forma que el chorro de CO desplace el aire del embudo. Se tapa el embudo, se deja de verter ácido sulfúrico y se espera a que termine la liberación de CO. (12)

NOTA. Es de vital importancia que esta manipulación sea realizada bajo una campana de extracción, estando el ventilador encendido, la puerta de la campana debe mantenerse lo más abajo posible.

2-C) MEDICIÓN DE COHb DE LA SANGRE (Whitehead y Worthington, 1961)

Fundamentos. En una muestra de sangre que contenga simultáneamente O₂ Hb y COHb, la primera variedad puede precipitarse mediante calentamiento controlado de pH 5.28, en tanto que la segunda variedad sólo disminuye en 20% aproximadamente por efecto de este tratamiento. La absorbancia de la COHb que queda en el filtrado se compara con la del volumen de sangre problema con CO.

Método.

1. En un tubo de ensayo mezclar 1.0 mL de sangre completa bien mezclada y 9.0 mL de solución salina isotónica.
2. Se centrifuga por 5 minutos, se elimina lo más posible el líquido sobrenadante, que se descarta.
3. Se repite el lavado con otro volumen de 9.0 mL de solución salina, y de vuelve a desechar el líquido sobrenadante.
4. Se añaden 4.5 mL de agua destilada a los glóbulos lavados, y se mezcla; se pasa 1.0 mL de la suspensión a un tubo previamente rotulado como problema.
5. Lo que resta de esta mezcla de agua con glóbulos se pasa a un matraz Erlenmayer de 100 mL, y se hace burbujear CO en el líquido por un minuto. Este paso debe realizarse bajo una campana de extracción, con un adecuado

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

sistema de ventilación, y el matraz debe agitarse para que no se expulse su contenido. El tanque de CO debe estar provisto de una válvula reductora y una válvula de control de aguja.

6. Se pipetea 1.0 mL de esta sangre carboxilada en un segundo tubo de ensayo previamente rotulado como testigo.
7. A ambos tubos se añaden 3.0 mL de solución de acetato y 0.75 mL de solución de ácido acético; se mezcla cada vez.
8. Ambos tubos se calientan en un baño de agua, entre 57 y 57.5°C, por 8 minutos exactamente. Se debe vigilar cuidadosamente el tiempo y la temperatura.
9. Se enfrían los tubos bajo la llave, y sus contenidos se filtran (papel Whatman número 1) en otros tubos rotulados en forma correspondiente.
10. La solución testigo se diluye 10 veces inmediatamente antes de leer su absorbancia a 555 m μ , estableciendo la absorbancia cero con agua destilada. La solución problema se diluirá, en caso necesario, hasta una absorbancia aproximadamente igual a la del testigo.

Cálculo.

Absorbancia del problema x recíproco de la dilución/Absorbancia del testigo x 10
= Porcentaje de la Hb bajo la forma de COHb.

Valores normales

No fumadores. Hasta 1.5%

Fumadores. Hasta 6.5%

En caso de muerte por intoxicación con CO, pueden encontrarse cifras hasta de 65%. En accidentes que no sean mortales (ejemplo; por inhalación de gases de combustión) se encuentran valores hasta del 15%.

Reactivos.

* Solución de acetato de sodio. Se disuelven 40.8 g de acetato de sodio hidratado, grado reactivo, CO₃COO-Na.3H₂O, en agua recién destilada, y se afora a 100 mL.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * Solución de ácido acético. Se diluyen 28 mL de ácido acético glacial, grado reactivo, hasta 100 mL con agua destilada, en un matraz volumétrico, se mezcla cuidadosamente.
- * Solución salina isotónica. Cloruro de sodio, NaCl, al 0.89 % p/v.

Notas.

1. Es preferible leer las absorbancias con un espectrofotómetro, pero puede emplearse un filtro verde amarillo en el fotómetro de filtro.
2. En el cálculo final, si el filtrado problema debe diluirse cinco veces para obtener una absorbancia semejante a la del testigo, el factor recíproco de la dilución será 5.0.
3. Si la muestra de sangre está hemolizada, por ejemplo en caso de autopsia, se suprime el paso de lavado, y se diluye 1.0 mL de la muestra con 5.0 mL de agua destilada; se continúa con el paso cuatro, desde "se pasa 1.0 mL a un tubo." El resultado con glóbulos no lavados es superior al habitual en 1.5% aproximadamente. (12)

2-D) CUANTIFICACIÓN DE COHb. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE HEILMEYER.*

Esta cuantificación se basa en la localización distinta que presentan los máximos y mínimos de absorción de las dos bandas correspondientes a los espectros de absorción de la O₂ Hb y COHb. Realizando dos lecturas correspondientes a un mínimo y un máximo y calculando el cociente se obtienen valores que sigue con mucha exactitud las diferencias de los correspondientes coeficientes de intoxicación.

Estas lecturas deben realizarse a 576 y 560 nm. El valor del cociente de estas absorbancias indica directamente el porcentaje de COHb en sangre.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 8. Método espectrofotométrico para la cuantificación de COHb.

VALOR DEL COCIENTE A 576/A560	% DE COHb	% DE O ₂ Hb
1,725	0	100
1,666	5	95
1,611	10	90
1,558	15	85
1,507	20	80
1,457	25	75
1,410	30	70
1,363	35	65
1,318	40	60
1,275	45	55
1,233	50	50
1,190	55	45
1,153	60	40
1,115	65	35
1,078	70	30
1,042	75	25
1,007	80	20
0,974	85	15
0,940	90	10
0,908	95	5
0,877	100	0

NOTA: Los valores de los coeficientes de las absorbancias de la sangre son a 576 y 560 nm y su relación con el porcentaje de COHb.

Material.

- Espectrofotómetro
- Cubetas de cuarzo de 0.5 cm de ancho
- Pipetas graduadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Reactivos.

- Solución de amoníaco D = 880 (0.4% v/v).

•

Procedimiento.

- Se toman 0.5 mL de muestra problema y se diluyen con 2.475 mL de la solución de amoníaco
- Se lava la pipeta utilizada con está misma dilución y se agita para favorecer la hemólisis.
- Se leen las absorbancias a 576 y 560 nm utilizando como blanco la solución de amoníaco.
- Se calcula el coeficiente A 576/560
- El valor del coeficiente obtenido se compara con la tabla anterior.

(32) *Método que actualmente se usa por la PGJ para determinar semicuantitativamente la COHb, tomado del manual de procedimientos de la Procuraduría General de Justicia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO IV

PROPUESTAS PARA MEJORAR LA DETERMINACIÓN DE COHb, APLICABLE EN LABORATORIOS DE TOXICOLOGIA FORENSE

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

4.1 PREPARACIÓN DE UN ESTÁNDAR DE CARBOXIHEMOGLOBINA

El siguiente método descrito se propone para realizar la preparación de un Estándar (STD) de COHb, que se use en determinaciones de COHb por espectrofotometría UV, el cual tiene la particularidad de permanecer estable por más de cuatro meses. En los métodos espectrofotométricos usados actualmente la determinación de las constantes A y B en un espectrofotómetro UV/Visible para calcular la concentración de COHb es complicada, por el hecho de que al determinar dichas constantes se parte del supuesto de que hay un 100% de saturación de CO en solución de Hb y un 0% de solución de COHb. Esta suposición no siempre es verdad y puede representar un problema al intentar interpretar resultados, por lo anterior se requiere de un Estándar estable y confiable.

Este método proporciona un STD de COHb de sangre entera, que es estable por más de cuatro meses cuando se almacena a 4°C, esto supera por mucho a los controles que se realizan en otras técnicas analíticas y a los controles comerciales disponibles que solo son estables por un mes.

METODO

Se extrae sangre total de un individuo (no fumador) en cuatro tubos Vacutainer de 10 mL que contengan 100 mg de fluoruro de sodio y 20 mg de oxalato de potasio, esto se hace el mismo día en que el Estándar va a ser preparado.

- El tubo Vacutainer con tapa gris es usado en los laboratorios de toxicología forense para coleccionar sangre post-mortem, ya que estos simulan una matriz biológica, evitan la coagulación y preservan el espécimen.

La sangre fresca colectada se agita por 30 minutos para asegurar que la muestra este bien mezclada con el anticoagulante y los agentes antibacteriales, después todas las muestras se llevan a tubos de 25 x 100 mm y se mezclan por un tiempo adicional de 30 minutos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

STD NEGATIVO DE CO. Este STD se prepara tomando la muestra de sangre fresca en un matraz volumétrico de 200 mL, el matraz debe estar en posición horizontal y girarse, mientras que < 1.0 mL /min. de nitrógeno se deja fluir para purgar el matraz por 2-3 minutos. Una parte de este control negativo es pipeteado dentro de un tubo pequeño de plástico para microcentrifuga de 1.5 ml que se llena hasta su capacidad y se sella con un plástico adherible (parafilm). Este es el control negativo STD de CO que se almacena por toda la noche a 4°C y al día siguiente se examina en un CO-OXIMETER para obtener la concentración promedio para el control negativo de CO.

STD POSITIVO DE CO. Este STD es preparado bajo condiciones biológicas, poniendo lo que resta de la sangre "CO negativo" restante en un matraz volumétrico de 200 mL. El matraz se pone en posición horizontal y se gira mientras < 1.0 mL/min. De CO fluye, esto para purgar el matraz por 20 minutos. Este STD de COHb que esta al 100% aproximadamente se diluye hasta aproximadamente 45% de COHb con una parte del control negativo preparado anteriormente. Una parte del control positivo, aproximadamente 45%, se pipetea y se lleva a un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL que se llena hasta su capacidad y se sella con parafilm, este STD de CO positivo se almacena toda la noche a 4°C y se examina al día siguiente en el CO-OXIMETER para obtener la concentración promedio del control positivo. Es importante dejar el espécimen toda la noche para asegurar el equilibrio entre el CO unido.

En un matraz volumétrico de 1000 mL se adicionan 500 mL de agua desionizada y 5 g de ditionito de sodio, esta solución se mezcla y se deja que se disuelva antes de aforar el matraz hasta la marca con el agua desionizada. Posteriormente a esta solución se le agregan 4 mL de hidróxido de amonio, concentrado, se homogeniza esta nueva solución y se guarda en un frasco ámbar, permitiendo su equilibrio guardándolo por 15 minutos (este reactivo dura máximo 4 horas).

El control negativo y el positivo se corren en el CO-OXIMETER 10 veces para obtener un promedio de nivel de COHb y la desviación estándar (DS). Estos niveles

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

entonces son usados para calibrar el espectrofotómetro UV/vis. Equipado con un automuestreador, este método usa la ecuación:

$$\%COHb = 100 [(C-B) / (A-B)]$$

y los puntos isosbéticos a 540 nm y 579 nm para calcular la concentración de COHb en sangre, en la anterior ecuación;

B = % COHb de los picos máximos en la relación (radio) a 540 nm y 579 nm.

A = % COHb de los picos máximos en la relación a 540 nm y 579 nm.

C = El pico máximo en la relación a 540 nm y 570 nm.

La siguiente ecuación se desarrolla en el laboratorio para calcular los valores de las constantes A y B:

$$B = P_{prom} - (P) [(P_{prom} - N_{prom}) / (P - N)]$$

$$A = B + (P_{prom} - N_{prom}) / (P - N)$$

Donde: P_{prom} = promedio de la relación de los picos 540/579 para la corrida normal positiva en el espectrofotómetro.

P = promedio de la concentración decimal medida en el CO-OXIMETER para el STD positivo

N_{prom} = promedio de la relación de los picos 540/579 para el STD negativo.

N = promedio de la concentración decimal negativa medida en el CO-OXIMETER para el estándar Negativo.

Una vez que el instrumento es calibrado, las muestras de sangre total recibidas para análisis son preparadas por duplicado. Por cada espécimen son preparadas dos muestras y pasadas en dos tubos de 16 x 100 mm. Estos tubos deben contener 10 mL de reactivo preparado (ditionito de sodio / hidróxido de sodio) junto con 100 µL de la muestra (desconocida) de sangre la cual tiene que estar libre de coágulos.

Se le coloca un trozo de parafilm como tapón a cada tubo y se mezcla perfectamente. El STD negativo y el positivo se preparan de la misma manera que las muestras recibidas para análisis.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las muestras son llevadas al automuestreador en un espectrofotómetro con arreglo de diodos para comenzar analizar en el siguiente orden:

- referencia blanco *muestra desconocida (1.a)
- positivo *referencia blanco
- referencia blanco *muestra desconocida(1b)
- negativo *referencia blanco
- referencia blanco

El instrumento se pone en marcha y los datos son reunidos por muestras. Las absorbancias se obtienen a 540 nm y 579 nm para todos los especímenes figura 2 y se calcula él por ciento de COHb.

En la siguiente tabla, se muestra una comparación cuando se usan estos dos instrumentos; CO-OXIMETER y espectrofotómetro UV / Visible. Se observa claramente que la calibración es cercana en valores para los dos, con una DS de 0.9 y 0.3 respectivamente, además se observan resultados de las pruebas corridas con el mismo control después de 5 meses. (25)

Tabla 9. Comparación estadística del CO - OXIMETER y espectrofotómetro y estabilidad del control de COHb por 5 meses.

Descripción	N	Medio	Varianza	SD	CV
Control positivo en CO-OXIMETER	10	45.6	0.8	0.9	2.0
Control positivo en espectrofotómetro	10	45.8	0.1	0.3	0.7
Control negativo en CO-OXIMETER	10	1.2	0.1	0.3	24.8
Control negativo en espectrofotómetro	10	1.3	0.0	0.2	16.5
Control positivo 49.2% corrido después De 5 meses	44	48.1	19.7	4.4	9.2
Control negativo 1.6% corrido después De 5 meses	20	1.5	3.3	1.8	125.8

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

4.2 MICROANÁLISIS DE CO EN SANGRE POR CROMATOGRAFÍA DE GASES EN ESPACIO DE CABEZA (HEAD-SPACE) CAPILAR.

En la siguiente propuesta para medir la COHb en sangre, se usa la cromatografía de Gases (CG), un método muy preciso para dicha medición, este método (CG) es mejorado usando un sistema capilar en combinación con un detector de conductividad térmica. Dicho sistema es muy sensible y tiene alta resolución. El tiempo de análisis se reduce a solo dos minutos aproximadamente, se usa ácido sulfúrico como agente liberador del CO, con el cual se observa una gradual y reproducible liberación de CO.

El método de CG es solo mínimamente afectado por la descomposición de la sangre. El uso de sistemas capilares mejora notablemente la eficiencia de la separación y acortan el tiempo de análisis, también se describe el uso de un tamiz molecular capilar (columna) en combinación con un detector de conductividad térmica (TCD), este detector es mucho más sensible incluso cuando se usa un sistema de inyección split (con división).

EQUIPO

Se usa un Cromatografo de Gases Perkin Elmer 900 equipado con un capilar de 25 metros PLOT fundido con una cubierta de sílica Monsieve 5 A (0.32 mm de diámetro interno). La columna tiene que ser sostenida a 80°C. la detección es realizada por un micro-TCD detector de Chrompack, la temperatura del detector se ajusta a 130°C con un rango hasta 210°C.

Se usa Helio como gas acarreador (3 ml/minuto). Se usa un sistema de datos Varian DS-650 para manejar los cromatogramas. El inyector split (con división) se sostiene a 100°C y la relación del split ajustado 1/10. Para calibrar el CG, se usa una mezcla certificada de 1520 ppm de CO en aire (UCAR, Belgium).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REACTIVOS

Ácido sulfúrico como agente liberante, contiene además 1.5% de saponina que asegura una lisis completa y fragmentación microscópica de la membrana de los eritrocitos. El pH de esta solución debe ser de 9 aproximadamente.

El STD de COHb es preparado con sangre humana fresca que contenga inicialmente 0.4% de COHb. El CO endógeno se remueve burbujando oxígeno puro a través de la sangre por dos horas. Una parte de la sangre limpia se satura con CO (L'Air Liquide, Belgium), poniendo en este frasco un sello, el CO es burbujado a través de la sangre por 30 minutos seguido por una corriente de nitrógeno por 5 minutos.

Se hacen diluciones apropiadas para producir concentraciones de COHb de 2,4,6,8,10,20,40,60 y 80%. Estos STD son estables por aproximadamente 4 semanas a 4°C.

PROCEDIMIENTO ANALITICO

Para medir las concentraciones de COHb, el CO es liberado de la sangre agregando una cantidad apropiada (50 μ L a 1 mL) de esta en un frasco vial, el cual se sella con un septum (tapón) de fluorosilicon. Usando dos agujas insertadas en este septum, el vial es fluido por medio minuto con helio purificado. Una aguja es removida y en una adecuada cantidad (dos veces el volumen de la sangre) adicionar el agente de liberación, agregando a través de la otra aguja. Después esta aguja también es removida y el vial se agita magnéticamente. En el caso del ácido sulfúrico, libera al CO a temperatura ambiente por 40 minutos.

El por ciento de saturación de la sangre se calcula por la relación de las áreas de los picos obtenidos de la sangre sin tratar y de la saturada:

$$A_c / A_s \times 100 = \% \text{ de saturación}$$

A_c = área del pico de CO de la sangre sin tratar

A_s = área del pico de CO de la sangre saturada con CO.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La saturación de la sangre se realiza poniendo una alícuota de la misma muestra de sangre en un frasco sellado, usando dos agujas hipodérmicas, una se coloca en la sangre y la otra se coloca en el sello, entonces comienza a burbujearse CO (gas) suavemente a través de la sangre por 30 minutos, seguido por una corriente de nitrógeno por 5 minutos. Después de la saturación la aguja se remueve.

COMENTARIOS

El procedimiento por CG se realiza por su eficacia. Su alta resolución y la excelente forma de los picos máximos se obtienen en un análisis que toma poco tiempo (cerca de dos minutos), además la linealidad de la respuesta del detector se comprueba analizando sangre diluida variando las concentraciones de COHb, en valores superiores a 65% se puede observar una ligera desviación de la curva. También presenta la ventaja de que se usan cantidades muy pequeñas de muestra incluso menores a 1 mililitro.

La resolución no disminuye, se observa uniforme con el uso diario del sistema capilar por meses, debido al sistema de inyección split (con división) la acumulación de agua es prevenida. La baja cantidad de sustancia inyectada en la columna capilar se compensa por la alta sensibilidad del detector de conductividad térmica.

La reproducibilidad del método se puede comprobar analizando cuatro muestras con diferentes concentraciones de COHb, durante 14 días se mide la reproducibilidad el mismo día analizando las mismas muestras 10 veces. (28)

4.3 ANÁLISIS RÁPIDO DE MONÓXIDO DE CARBONO EN SANGRE POR CROMATOGRAFÍA DE GASES, USANDO 1 L DE MUESTRA DE SANGRE.

El siguiente método por cromatografía de gases es muy sensible para COHb, se basa en la reacción del CO con $K_3Fe[(CN)_6]$ y cromatografía de gases (CG) del CO liberado. Con este método se aumenta la estabilidad de la línea base, se acorta el tiempo de análisis ya que un juego típico de 16 muestras se analiza en 1 hora, incluyendo la preparación, con una sencilla estandarización. En este método se usa

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

COHb contenida en la sangre que es almacenada en tubos capilares los cuales tienen heparina sólida y saponina, que son estables por dos semanas.

Este método tiene también la ventaja de que se puede usar sangre del talón o de la yema del dedo por venipuntura; el uso del sistema capilar que este método sigue tiene varias ventajas: facilidad para colectar la muestra de sangre, tamaño pequeño de la muestra, la muestra no varía al diluirse con líquido anticoagulante, la muestra permanece homogénea, ausencia de contaminación en la muestra, ausencia de coagulación y contenido de COHb estable en almacenamiento. En suma esta técnica analítica propuesta es más confiable, sensible, consume menos tiempo y proporciona resultados cuantitativos.

METODO

- Obtener sangre del talón o de la yema de dedo por venipuntura.
- Colectar la muestra directamente en un tubo para microhematocrito (75 x 1 mm, 70 μ L, Scientific Products, McGraw Park, IL 60085) previamente recubiertos con heparina y saponina, secos. Los tubos deben llenarse hasta cerca de su capacidad.
- Introducir a los tubos una barra de acero inoxidable de 15 x 0.75 mm también previamente cubiertos con heparina, saponina y secos, sellar los tubos con "Critocap" cierra tubos.
- Mezclar la sangre y reactivos completamente por inversión de los tubos cerca de diez veces o hasta que se observe líquido claro.
- Analizar las muestras inmediatamente o almacenar a 4°C por no más de dos semanas.

REACTIVOS

Para cubrir el interior de los tubos para microhematocrito se hace con aproximadamente 2 μ L de una solución recién preparada de 100 mg de saponina en 1 mL de heparina-sodio. Los tubos se mantienen horizontalmente para dejar que el agua se evapore a temperatura ambiente o en un horno a presión reducida a cerca de 50°C.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las barras de acero inoxidable se humedecen también con la solución de heparina / saponina (200 μ L para 50 barras), esto en un tubo de polipropileno para centrifuga de 1.5 mL, y se permite que el agua se evapore.

La mezcla de reacción se prepara como sigue; en 5 mL de agua destilada: 50 mg de saponina, 1g de $K_3 Fe[(CN)_6]$ y 1 mL de buffer de fosfato, 1 mol / L, pH 6.0, ajustar el volumen a 10 mL, esta solución debe ser preparada el mismo día que se use y mantenerse a temperatura ambiente y fuera de la luz solar directa.

Para purgar los frascos viales se usa gas libre de CO, obtenido al pasar aire a través de un convertidor catalítico (Hopcalite) a 100°C. Este convertidor reduce la concentración de CO en el aire, hasta un insignificante 20 n L/L.

ESTANDARIZACION

Para la estandarización se usa un gas STD que se obtiene comercialmente (CO en nitrógeno, 23.4 μ L/L, de Airco, Inc., Santa Clara, CA 95051), o una mezcla de 20 μ L de gas CO puro (99-9%, Matheson Gas Products, East Rutherford, NJ 07073) con 1000 mL de gas libre de CO en una jeringa de acrílico de 1000 mL (Hamilton Co., Reno, NV 89510) sellado con un septum del número 18 apropiado y sin la aguja. La concentración de CO en esta jeringa permanece estable por al menos 8 horas.

PROCEDIMIENTO ANALITICO

Para la reacción se usan frascos viales (12 x 32 mm, 1.5 - 2.0 mL, Pierce Chemical Co., Rockford, IL 61105) con tapón de rosca y un septum (8mm diámetro; lámina de silicón azul; Alltech Associates, Los Altos, CA 94022)

- Los viales se ponen en el carrusel de polipropileno provisto con 80 lugares
- Dispensar 20 μ L del reactivo en el fondo de cada vial a 1-ml de gas comprimido.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Sellar el vial y purgar el head space con aire libre de CO por 2 segundos a 200 mL / minuto, se usa la aguja ensamblada como se muestra en la siguiente figura 15 A, para evitar exceso de presión en el vial.
- Repurgar los viales por 2 segundos justo antes de adicionar la muestra de sangre.
- Típicamente se usa una serie de 16 viales por corrida analítica y se analizan las muestras por duplicado.
- Después de adicionar la sangre o gas estándar a todos los viales, tienen que estar a temperatura ambiente, poner el primer vial 10 minutos después hacia la válvula de inyección del CG por medio del espacio de cabeza (head space), el acceso de la aguja debe ensamblarse como se muestra en la siguiente figura 15B.

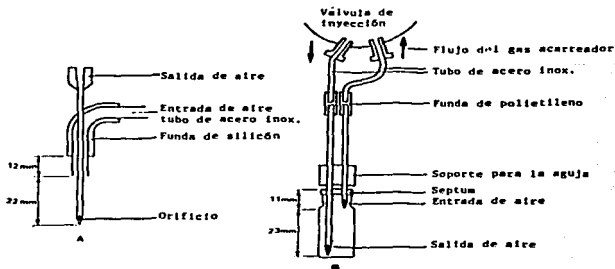


Fig. 15. Ensamble de agujas para purgar los viales de reacción (A) y haciendo un muestreo del vial head space (B)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

EQUIPO PARA EL ANALISIS DEL GAS CO

Para determinar la cantidad de CO liberado en el vial de reacción se utiliza un cromatografo de gases con head space equipado con un detector de reducción de gas, un 10 - puerto neumático (port pneumatic), válvula de inyección de la muestra controlada por un controlador digital de secuencia de válvulas (Valco Instruments Co., Houston, TX 77024) que inyectan la muestra gaseosa 90 x 0.53 cm sobre la columna de acero inoxidable, la cual esta empacada con tamiz molecular 5 A, malla 60 - 80 (Alltech Associates).

La temperatura de la columna se debe mantener a 110°C, el gas acarreador queda libre ya que los gases se reducen al pasar por un convertidor catalítico y un tamiz lunar (mole-sieve) para la humedad además de una trampa con CO₂ (Trace Analytical), fluir a través de la columna a una velocidad de 50 mL / minuto. Bajo estas condiciones de operación el tiempo de elución de CO es cerca de 70 segundos y cantidades tan pequeñas como 0.1 n L de CO son detectables.

Se usa un registrador de 10 m V (Linear Instruments Corp., Irvine, CA 92705) que da una respuesta gráfica a una velocidad de 20cm/hora.

Se dispone de una trampa de humedad (45 x 3.5 mm) llena con azul de metileno en polvo Mg(ClO₄)₂ que se posiciona entre la válvula de inyección y la columna para evitar que el vapor de agua este entrando en la columna e interfiera con el análisis.

Se usan los picos altos para correlacionar las respuestas detectadas entre las muestras y el STD. Los viales y septas pueden utilizarse nuevamente, previo lavado en una dilución de NH₄OH (50 mL/L) y enjuagando con agua destilada.

CALCULO

Las concentraciones de COHb se expresan como él por ciento de saturación, calculado de la concentración de hemoglobina en sangre usando la siguiente fórmula:

$$\text{COHb (\% saturación)} = \text{Vol}_{\text{CO}} \times 100 / ([\text{Hb}] \times 1.34)$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DONDE:

Vol_{CO} = Es la cantidad de CO (mL) unida a 100 mL de sangre total.

[Hb] = Es la concentración de hemoglobina (g/100mL: usando el método de cianometahemoglobina de Sigma Chemical Co.).

1.34 = Es el factor expresando la capacidad de unión máxima del CO de 1 g de Hb. (26)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

Debido a que el envenenamiento con CO continua siendo un problema muy serio, tanto en México como en otros países, por estar asociado con una alta incidencia de muertes por inhalación, sobre todo accidentalmente y en la época invernal del año, se considera importante que se disponga de metodologías analíticas capaces de proveer resultados cuantitativos efectivos y confiables.

Así, se proponen dos métodos analíticos para cuantificar la COHb contenida en sangre que además de contar con las características anteriores, reducen el tiempo de análisis notablemente, son sensibles, tienen alta resolución y lo más importante; pueden aplicarse en Laboratorios de Toxicología Forense.

Dichos métodos son realizados mediante Cromatografía de Gases con espacio de cabeza "head space", técnica que ya tiene aplicación en la identificación y cuantificación de drogas de abuso, pero que sin embargo aquí se usa para identificar y cuantificar al CO con resultados cuantitativos confiables que, si se aplican al ámbito legal, contribuirán a mejorar los dictámenes químicos realizados en los laboratorios de Toxicología Forense.

Por lo anterior, se concluye que los objetivos planteados al inicio del presente trabajo se cumplieron satisfactoriamente, ya que se logró recopilar información metodológica y analítica para identificar y cuantificar COHb en sangre.

Además sirve de apoyo para quienes estén interesados en realizar dichas propuestas analíticas que se pueden aplicar también en otras áreas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dreisbach R.H., Toxicología Clínica, 6ta., El Manual Moderno, México, 1988, pág. 81-83, 240-243.
2. Tello F. J., Medicina Forense, Harla, México, 1991, pág. 255-257.
3. Carbon Monoxide, Environmental Health Criteria 213, 2da., World Health Organization, Geneva, 1999, pág. 21-45, 101-107, 121-125, 135-161, 327-335, 434-440, 451,452.
4. Anderson S. C., Química Clínica, Interamericana McGraw-Hill, México, 1995, pág. 461-463.
5. Knight B., Medicina Forense de Simpson, El Manual Moderno, México, 1994, pág. 347-350.
6. Gossel T.A., Principles of Clinical Toxicology, 2da., Raven Press, USA, 1990, pág. 96-101.
7. Clarke's, Isolation and Identification of Drugs, 2da., The Pharmaceutical Press, England, 1986, Pág. 6, 20 y 21.
8. Martínez M.S., Medicina Legal, 16ª. Méndez Editores, México, 1991, pág. 98-102.
9. Buzzo A., Toxicología, 5ta., Libreros Lopes Editores, Argentina, 1960, pág.53-63.
10. Criterios de salud ambiental 13 "Monóxido de Carbono", Organización Panamericana de la Salud, E.U.A., 1993, pág. 9-37.
11. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Nociones Generales de Toxicología Ocupacional, Metepec Estado de México, 1989, pág. 76.
12. Lynch M. J., Métodos de Laboratorio, 2da., Nueva Editorial Interamericana, México, 1985, pág. 381-383.
13. Tood S.D., Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio, Tomo I, 7ª, Salvat Editores, España, 1985, pág. 861-862.
14. Goodman G.A., Las bases Farmacológicas de la Terapéutica, Vol. II, 9ª, McGraw-Hill Interamericana, México, 1996, pág. 1784-1787.
15. Woodhall S., Effects of Exposure to Toxic Gases, 3ª. First aid and Medical Treatment, E.U.A., 1988, pág. 31-34.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

16. Ming-Ho Yu. *Environmental Toxicology, Impacts of Environmental Toxicants of Living Systems*, Lewis Publisher, E.U.A. 2001, pág. 31,38,39, 104-106.
17. Loomis Ted A., *Loomis's Essentials of Toxicology, Fourth ed.*, Academic Press, E.U.A., 1996, pág. 50, 157, 158.
18. Staunton W. E., *Bioquímica Médica*, 4ª, Interamericana, México, 1969, pág. 470-473.
19. *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*, 11ª, Published by Merck & Co., Inc., U.S.A., 1989, pág. 275.
20. Duffus J.H., *Toxicología Ambiental*, Editorial Omega, España, 1983, pág. 96-98.
21. Vargas A. E., *Medicina Legal*, Trillas, México, 1996, pág. 293-295.
22. Bauer J. D., *Análisis Clínicos, Métodos e Interpretación*, Ed. Reverté, España, 1986, pág. 45-46, 719-721.
23. *The Pharmaceutical Society of Great Britain, Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2ª, The Pharmaceutical Press, England, 1986.
24. Mercado S. H., *¿Cómo hacer una Tesis?*, 2ª, Limusa, México, 1993, pág. 30-31,38-39, 44-47, 127-132, 133-139.
25. Canfield DV, Smith M, Ritter RM, Chaturvedi AK. Preparation of carboxyhemoglobin standards and calculation of spectrophotometric quantitation constants. *J. Forensic Sci* 1999; 44(2): 409-412.
26. Hendrik J. Vreman, Linda K. Kwong, and David K. Stevenson. Carbon Monoxide in Blood: An Improved Microliter Blood-Sample Collection System, whit rapid Analysis by Gas Chromatography. *Clinical Chemistry*, 30/8, 1382-1386 (1984).
27. Risser, D. And Schneider, B., "Carbon Monoxide-Related Deaths from 1984 to 1993 in Vienna, Austria," *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol. 40, No. 3, May 1995, pp. 368-371.
28. Van Dam, J. And Daenens, P., "Microanalysis of Carbon Monoxide in Blood by Head-Space Capillary Gas Chromatography," *Journal of Forensic Sciences*, Vol. 39, No. 2, March 1994, pp. 473-478.
29. Farrow, J. R., Davis, G.J., Roy, T.M., McCloud, L. C., and Nichols, G.R. II, "Fetal Death Due to Nonlethal Maternal Carbon Monoxide Poisoning," *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol. 35, No. 6, Nov. 1990, pp. 1448-1452.
30. Jumbelic MI. Open air carbon monoxide poisoning. *J Forensic Sci* 1998; 43(1): 228-230.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

31. Varon J, Marik PE: Carbon Monoxide Poisoning. The Internet Journal of Emergency and Intensive Care Medicine 1997; Vol1 N2: [Http://www.ispub.com/journals/IJEICM/Vol1N2/CO.htm](http://www.ispub.com/journals/IJEICM/Vol1N2/CO.htm)
32. Manual de procedimientos, Procuraduría General de Justicia, 2000.
33. Vargas E.A., Medicina Forense y Deodontología Médica, Trillas, México, 1991, pág. 761.
34. Diccionario Terminológico de ciencias médicas, 12ª , Salvat Editores, España, 1984.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El presente anexo se realiza con la finalidad de ilustrar y complementar la información presentada anteriormente, mostrando artículos de interés tomados del "Journal of Forensic Sciences".

1) *MUERTES RELACIONADAS CON MONÓXIDO DE CARBONO DE 1984 A 1993 EN VIENA, AUSTRIA.

El envenenamiento con monóxido de carbono (CO) ocurre frecuentemente en países industrializados como lo es Austria. Entre 1970 y 1978 en Viena se reemplazo el gas rico en carbono por gas natural, a pesar de esto la gente sigue muriendo por envenenamiento con CO no intencional.

El propósito principal de este estudio es determinar las razones de las muertes relacionadas con estos envenenamientos por CO no intencionales en Viena entre 1984 y 1993, también describe la epidemiología de este envenenamiento fatal, un segundo propósito es investigar si el envenenamiento con CO es intencional, ya que también tiene un papel importante entre suicidios.

Para estos propósitos, se analizaron muertes relacionadas con CO basados en reportes de autopsias post-mortem realizadas en Viena en el Instituto de Medicina Forense. Las muertes relacionadas con incendios son excluidas.

El principal motivo de muertes por CO no intencional, fue por el uso excesivo de artefactos para calentar agua con suministro de gas (calentadores); especialmente por adultos mayores durante el periodo invernal, la frecuencia de estas muertes en 1993 es casi tan alta como en 1984. Un total de 53 % de personas fallecidas tenían más de 60 años. Los suicidios disminuyen significativamente en el periodo de investigación, en el 76% estas muertes fueron inhalando humo del escape de automóvil, especialmente por hombres.

En este estudio las muestras de sangre para determinar carboxihemoglobina (COHb) se analizaron usando espectrofotómetro (M4 Q111, Carl Zeiss).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los datos son reportados como; media Desviación Estándar (DS) y las diferencias significativas se consideran como $P < 0.05$ SAS 6.08 (SAS Institute Inc., Cary, NC) que es usado para análisis numérico. Se usaron 417 casos de envenenamiento con CO: 166 muertes se debieron a incendios, por lo tanto, se excluyeron y solo se estudiaron 251 casos; 99 mujeres y 101 hombres murieron por inhalación de CO no intencional ($n=200$). El resto 4 mujeres y 47 hombres se suicidaron con CO ($n=51$).

Las muertes no intencionales relacionadas con CO se incrementaron en 1986, seguido por un ligero declive en 1993, el por ciento de envenenamiento por CO en accidentes fatales es más alto en 1984. Aquí se asocia fuertemente, estas muertes no intencionales con el periodo invernal del año de Octubre a Marzo (Fisher's Exact test; $P < 0.01$).

Tabla 1. Muertes relacionadas con CO en Viena: ($n=200$), Instituto de Medicina Forense, Viena, Austria.

Año	N	valor - a	% - b
1984	16	1.18	2.3
1985	27	1.78	4.0
1986	29	1.92	4.6
1987	28	1.85	4.3
1988	14	0.91	2.3
1989	20	1.29	3.8
1990	19	1.21	3.4
1991	20	1.29	3.8
1992	13	0.80	2.6
1993	14	0.85	2.0

-a Valores por 100.000 habitantes (censos de cada año).

-b Porcentaje de todos los accidentes fatales en Viena.

La frecuencia acumulativa de muertes en Enero es cerca de 16 veces la frecuencia en Julio (31 vs 2 casos).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

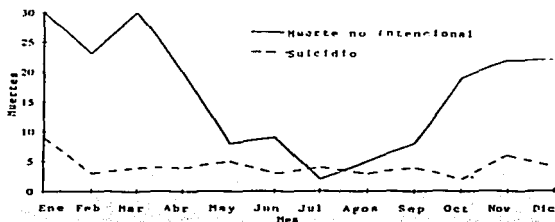


Fig. 1. Muertes relacionadas con CO por mes

Los envenenamientos intencionales, también aumentaron en 1986 y decrecieron significativamente con los años (análisis de regresión: $P < 0.01$). Estos suicidios ocurrieron más o menos uniformemente por todo el año.

Tabla 2. Muertes intencionales relacionadas con CO en Viena (n=51), Instituto de Medicina Forense, Viena, Austria.

Año	N	Valor -a	% - b
1984	6	0.39	1.5
1985	8	0.53	2.3
1986	11	0.73	2.4
1987	4	0.26	0.9
1988	7	0.45	1.8
1989	6	0.38	1.6
1990	3	0.19	0.8
1991	3	0.18	0.9
1992	1	0.06	0.3
1993	2	0.12	0.6

-a Valor por 100,000 habitantes (censos de cada año).

-b Porcentaje de todos los suicidios en Viena.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

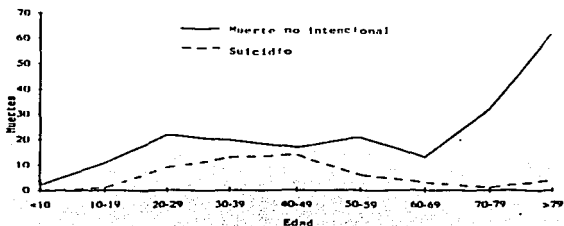


Fig. 2. Muertes relacionadas con CO por año

SEXO Y EDAD

El envenenamiento con CO no intencional, está asociado fuertemente con el sexo masculino (Fisher's Exact test: $P < 0.001$). Un total de 92% de las personas que se suicidan son hombres.

Las muertes no intencionales ocurren en adultos mayores, más que los que se suicidan (59 ± 24 vs 44 ± 17 DS, en años; Wilcoxon 2-muestras test: $P < 0.001$).

Un total del 53% de las muertes no intencionales relacionadas con CO ocurren en personas sobre los 60 años, y el 53% de las personas que se suicidan tienen entre 30 y 49 años de edad.

El promedio de edad de las víctimas de envenenamiento accidental es de 55 años en 1984 y aumento a 67 años en 1993.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FUENTES DE CO

En 151 de las muertes no intencionales, el CO es derivado de gas combustible en aparatos para calentar agua, de los cuales solo 118 tenían el tubo de escape fuera de la vivienda, el 36% de estos calentadores estaban defectuosos.

14 accidentes fatales están relacionados con el uso de gas combustible en estufas y 7 con el uso de carbón vegetal o madera en estufas domésticas.

Un hombre murió debido al mal funcionamiento del motor en un auto funcionando y estacionado; en 21 casos, la fuente del CO no es conocida por el comportamiento post-mortem.

Un total de 39 suicidios son por inhalar humo del tubo de escape de automóvil, 12 personas se suicidaron usando utensilios de gas.

2) *ENVENENAMIENTO CON CO AL AIRE LIBRE

Una forma inusual de envenenamiento con CO, le cuesta la vida a dos personas en dos incidentes separados. Ambos incidentes son inicialmente atribuidos a causas incorrectas, esto, debido a la *"falsa noción de que el CO, no representa ningún riesgo en un área ventilada"*. La causa de dichos fallecimientos se establecieron a través de pruebas de laboratorio que identificaron en envenenamiento con CO.

CASO 1. La persona fallecida fue un hombre, blanco, de 27 años, que se encontró desplomado en el asiento de conductor de su auto, este se encontró atascado (atorado) formando un ángulo en la parte trasera ligeramente hacia abajo en un bosque pantanoso. Las ruedas traseras estaban atascadas, las ventanas tanto del conductor como del asiento del acompañante se encontraron abiertas totalmente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El examen externo del cuerpo revela livideces rosadas del cuerpo consistentes con la posición en la cual fue encontrado, el rigor mortis se observó completamente. El examen interno reveló que no había traumas por violencia incluyendo fracturas, contusiones o hemorragias. Tampoco había alguna enfermedad natural en proceso que explicara su muerte.

Los estudios de laboratorio para drogas y alcohol fueron negativos, pero los estudios para COHb revelaron que tenía una concentración de 78% de esta en sangre.



Fig. 3. Fallecido encontrado en el asiento de su automóvil con las ventanas abiertas y las llantas traseras atascadas en el lodo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CASO 2. La persona fallecida fue una joven blanca, de 16 años de edad, la cual se encontraba zambulléndose junto con un joven fuera de la popa de un barco de motor, este barco no tenía espacios cerrados. Se trasladaron a aproximadamente 450 yardas hacia el centro del lago de agua dulce para nadar, esto a media noche, el joven encendió el motor del barco para calentar el agua que se encontraba atrás del barco donde ellos estaban nadando. Después de nadar aproximadamente 10 minutos, el joven empezó a sentir cansancio y frío y regreso al barco, en ese momento nota que su compañera pone la cabeza en el agua y desaparece, el penso que ella estaba nadando dentro del agua, pero se alarmo al notar que ella no resurgia y llamo a servicios de emergencia.

La búsqueda de la joven bajo el agua se extendió hasta el quinto día que la encontraron a 50 pies de profundidad con una temperatura del agua de 48° F.

En el examen externo del cuerpo se observó este en buenas condiciones, esto por la temperatura del agua, las lívideces eran rosadas en la parte posterior, rigor mortis presente, no se observó daño por violencia como fracturas, contusiones o hemorragia. Los pulmones eran pesados (1490g) estaban congestionados y edematosos, el cerebro presentaba decoloración a rosa.

Los estudios toxicológicos fueron negativos a drogas y se encontró una pequeña cantidad de alcohol (nivel permisible), pero los correspondientes a COHb revelaron una concentración de 62% en sangre del corazón y 51% en sangre femoral.

Al examinar la emisión de CO en el barco con el motor encendido y en un lugar fijo, se encontró que en 8 minutos había CO presente en concentraciones superiores a 100 ppm en el aire, cerca del nivel del agua y a varios metros de donde se encontraba el barco.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

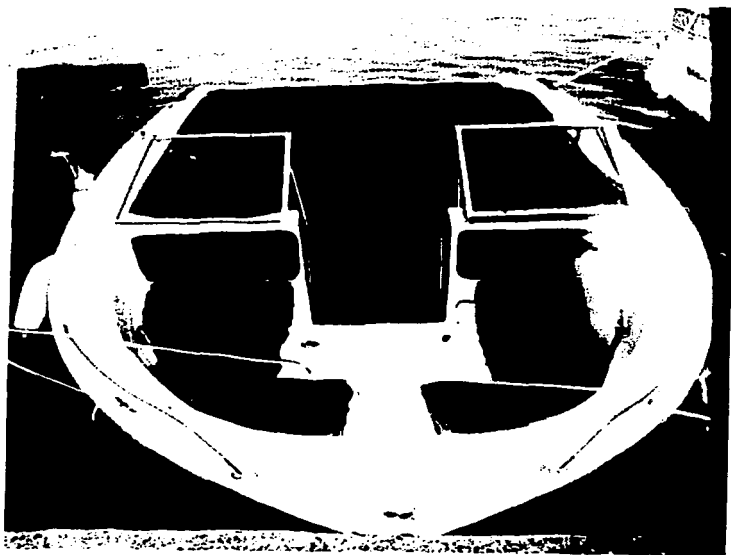


Fig. 4. Barco con motor donde se produjo la muerte de la joven por CO

COMENTARIO

En el primer caso, el humo del vehículo fue forzado a entrar adentro de este, debido a la obstrucción del tubo de escape por el lodo. En el segundo caso la proximidad de los jóvenes al lugar de emisión de los gases y a nivel del agua permitió la exposición al CO.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3) *MUERTE FETAL DEBIDO A INTOXICACIÓN MATERNA NO – LETAL CON MONÓXIDO DE CARBONO.

La muerte fetal debido a intoxicación aguda por CO en la madre, es raramente reportada, en este caso la muerte fetal ocurrió por una exposición de CO no letal de la madre, en el cual los niveles de COHb que fueron obtenidos de la madre y el feto. La investigación del intercambio de CO entre la madre y el feto se mostró por la absorción del CO y su eliminación, la cual se llevo a cabo más lentamente en la circulación fetal. La COHb fetal sube más lentamente que la materna, pero continúa subiendo por varias horas después de la exposición aguda hasta que, eventualmente alcanza un equilibrio a un nivel aproximadamente del 10% mayor que la saturación de COHb de la madre. En este caso se demuestra que los tejidos fetales tienen riesgo alto de sufrir hipoxia causada por CO, cuando hay altas concentraciones de COHb.

En este caso al alcanzar la madre concentraciones de COHb de 40 – 50%, perdió la conciencia, entonces por la cinética del feto, este alcanza niveles de COHb de al menos 65%, esta disparidad se explica por el hecho de que la muerte fetal ocurre en el tiempo que la circulación fetal alcanzada es la máxima saturación de COHb.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN