

REVISIÓN

Pelo: Matriz alternativa en el estudio de drogas reguladas y terapéuticas en el ser humano

Perkins, A. M.

Morgue Judicial, Cuerpo Médico Forense, Corte Suprema de Justicia de la Nación. Viamonte 2151 (1026), Buenos Aires, Argentina

Contacto: Perkins, A. M. - email: amperkinsp@hotmail.com

RESUMEN Tanto desde el punto de vista sanitario como desde el forense, poder identificar en el organismo humano la presencia de una sustancia potencialmente tóxica o ilícita es de relevante importancia. Las matrices biológicas tradicionales, como la sangre y la orina, tienen una ventana de detección temporalmente muy corta, expresable en horas o a lo sumo en días. Es ante esa limitación, que desde los años ochenta han tomado un papel importante las investigaciones en matrices alternativas con ventanas mayores, como es el pelo, que según su largo posee una ventana de detección de drogas que puede llegar a meses o años. La gran cantidad de trabajos científicos sobre este último tema, pone de manifiesto la complejidad del problema. En esta revisión se tratan aspectos anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y metodológicos, relacionados con la posibilidad del uso del pelo en las investigaciones de drogas, así como del valor a dar a los resultados emergentes. Como conclusión general se puede afirmar ante un resultado positivo, que el individuo en algún momento estuvo expuesto a determinada o determinadas drogas sin establecer con exactitud fechas. Las conclusiones deben ser muy cautas por las distintas variables que pueden afectar los resultados y sus implicancias judiciales. Es trascendente seguir investigando sobre esta matriz para poder concederle una mayor importancia, y a su vez, poder interpretar los resultados con mayor rigor científico.

Palabras clave: Pelo; matrices alternativas; drogas terapéuticas; drogas ilícitas, drogas reguladas.

ABSTRACT From both the forensic and the sanitary points of view, it is of high importance to detect and identify the presence of poisonous substances as well as of illicit drugs in the human body. Classical biological samples such as blood and urine have quite a narrow range in time, sometimes only hours or even days. Under these circumstances, since the 1980's, it has been of utmost concern to search for alternative samples with longer time windows. Hair is one of these alternatives because its time window can reach months or even years. This survey is based on anatomic, physiological, biochemical and methodological aspects related to the potential use of hair in drug research and tracing. As a conclusion, in a positive result, we can assert that an individual may have been exposed to one or several drugs, but not specify accurate dates. However, we have to remain cautious about the different variables that can affect the results. Further studies should be carried out on this alternative sample to highlight its importance and thus assess the outcomes with robust scientific bases.

Keywords: Hair, alternative samples, therapeutic drugs, illicit drugs, regulated drugs.

ISSN 1515-6761 Ed. Impresa
ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM
Código Bibliográfico: RByPC
Fecha de Recepción:
03/06/2014.
Fecha de Aceptación:
07/08/2014.

INTRODUCCIÓN

Las descripciones de envenenamientos realizadas por Tito Livio y Tácito, señalan al arsénico como el principal de los venenos utilizados como arma política en la Roma Republicana. Tal extensión alcanzó el uso de los venenos que Sila -82 a.C.- promulgó la famosa "*lex Cornelia de Sicariis et Veneficiis*", en la que se castigaba específicamente estos delitos y que luego se completó con la "*lex Julia*".

Con el correr del tiempo la práctica de envenenar llega tanto a la Edad Media como al Renacimiento dando cuenta de nombres famosos como el veneno de los Borgia, el de

los Médicis, el de Toffana que llegó a causar más de 600 muertes con mixturas a base de arsénico denominadas "*Acquetta di Toffana*".

El miedo a morir envenenado fue constante en la Edad Media y en el Renacimiento, por ello personajes importantes de la época debieron tomar medidas para evitar ser asesinados por este medio, a tal extremo que se impuso que las personas de cierta relevancia social fueran sometidas a autopsia para establecer si este método fue la causa de la muerte. Esto trajo aparejado un rápido avance en el conocimiento de la patología humana, no solo de origen tóxico,

sino también de otras etiologías.

En el siglo XVIII fue muy famosa Margarita d'Aubray, Marquesa de Brinvilliers, quien inventó una mezcla a base de arsénico, cloruro mercurico y opio, eliminando con ella a su padre y a sus dos hermanos, y muriendo accidentalmente su amante al manipular estas sustancias, lo que permitió que se descubriera el delito.

Si bien, Plenck en 1798 sostenía que para confirmar las intoxicaciones se debía comprobar la presencia del tóxico en el cadáver, hasta el siglo XIX se careció de técnicas que permitieran descubrir la causa de la muerte, debido a la extrema dificultad para establecer el agente tóxico. Generalmente se producían lesiones inespecíficas y similares a procesos patológicos que podían ser confundidas clínicamente, puesto que se carecía de un método químico seguro para identificar al tóxico. El uso del arsénico en envenenamientos decayó cuando en 1836 James Marsh creó un método para detectarlo en forma eficaz.

En 1850 el conde Hipólito Bocarmé, asesinó a su cuñado administrándole nicotina que extraía de las hojas del tabaco. Para demostrar la causa de la muerte, Stass diseñó una técnica de extracción y aislamiento de tóxicos orgánicos fijos, por lo que para dicha época los alcaloides pudieron ser investigados.

Mediante el esfuerzo de aquellos pioneros, aunado a la evolución posterior de la química analítica y biológica, del desarrollo en la instrumentación y en las metodologías analíticas, la toxicología adquiere un gran desarrollo que va consolidando la sensibilidad y especificidad de los resultados obtenidos.

El análisis de muestras biológicas presenta un aspecto adicional, como es que las técnicas y métodos a aplicar poseen una mayor sensibilidad, a esto deben sumarse las dificultades que ofrece la interpretación de los resultados analíticos hallados, así como los posibles interferentes presentes en estas complejas matrices.

Cada matriz biológica provee una perspectiva histórica sobre la exposición a una droga y puede aportar una valiosa información, teniendo en cuenta las limitaciones que cada una ofrece en la detección de drogas de abuso y terapéuticas. Cada matriz es de potencial utilidad ya que provee una información tóxica - farmacológica única en la historia de una persona sobre su exposición a las drogas.

La disposición de la droga en los fluidos y matrices biológicas está relacionada con los procesos de absorción, distribución, biotransformación y excreción, así como también, con las propiedades físicas y químicas de la droga, su peso molecular y el pK, la vía de administración, el flujo sanguíneo del tejido, la concentración, la duración y la frecuencia de exposición, su grado de unión a proteínas y la lipofilicidad de los analitos. Esas características en su conjunto determinarán la posibilidad de encontrar drogas en las distintas matrices biológicas y condicionarán la magnitud de su efecto tóxico - farmacológico.

Desde hace más de veinte años va creciendo el interés

en el uso de muestras biológicas diferentes a las tradicionales para detectar la presencia de drogas reguladas y sus metabolitos, complementándose así la búsqueda de analitos que permitan la investigación pericial. En esta apasionante búsqueda de los analitos presentes en las distintas muestras biológicas, con el correr del tiempo se han agregado a las ya tradicionales muestras de sangre y orina, las que hoy día conocemos con la denominación de "matrices biológicas alternativas" que, entre otras, son: el pelo, el sudor, la saliva y las uñas.

En el campo forense la aplicación de la ley debe sustentarse en datos analíticos concretos y confiables, tanto en material de secuestro como en muestras biológicas, analizando las drogas presentes en éstas, sus metabolitos o ambos. En cuanto se refiere a las drogas de abuso que son reguladas mediante el Decreto Reglamentario 299/10 correspondiente a la Ley 23.737, los laboratorios periciales deben ser capaces de detectar cada vez mayor número de sustancias, usando métodos de detección e identificación rápidos y que al mismo tiempo sean confiables y específicos.

Importancia del pelo como matriz alternativa

El pelo fue considerado por los toxicólogos un elemento importante para el estudio de determinados tóxicos, especialmente de carácter metálico como, entre otros, el arsénico, el plomo y el mercurio. Aunque su aspecto es frágil es casi indestructible, ya que sólo se altera si se lo quema o trata con ácidos fuertes. Con el progreso de los sistemas de aislamiento y detección de tóxicos, se comprobó que no solamente podían acumularse en el pelo los compuestos metálicos, sino que también lo hacían otras drogas susceptibles de generar adicciones, por lo que desde el año 1979, se lo usó para documentar la exposición crónica a una droga, siendo los opiáceos las primeras reportadas en esta matriz.

El hallazgo de cocaína en pelo fue reportado en 1981, -Arnold and Puschel 1981; Valente et al. 1981-. En estos estudios las muestras provenían de adictos a drogas de abuso y fueron analizadas por radioinmunoensayo -RIA-, técnica que permitía detectar la benzoilecgonina -metabolito de la cocaína- a modo de verificar una historia previa de consumo. En corto tiempo le siguieron los estudios de: Baumgartner -1982-, Smith y Liu -1986-, Michalodimitrakis -1987-, Balabanova y Homoki -1987-.^{1,27,38}

El primer procedimiento para detectar cocaína en pelo usando cromatografía gaseosa-espectrometría de masas -GC/MS- fue reportado en 1987 por Balabanova y Homoki. Esa técnica, más específica, permitió establecer que la cocaína era el analito presente en mayor cantidad, estándolo en menores concentraciones tanto la Benzoilecgonina como la Metilecgonina. A dicha publicación, luego, le siguen otras como la de Kints y Magin.²

La mayor ventaja práctica del uso de esta matriz, comparada con las de orina y sangre, es su amplia ventana temporal para la detección de analitos, ya que va de semanas

a meses o años según el largo del pelo a diferencia de horas o días en las convencionales, por lo que podría decirse que el estudio analítico de éstas últimas se complementa con los realizados sobre el pelo. La orina y la sangre, permiten obtener información sobre la exposición a una droga en tiempo inmediato o corto post asunción, mientras que el pelo permite conocer la exposición a través de un período mucho mayor.³

El número de drogas que pueden detectarse en el pelo se ha ido incrementando constantemente, incluyendo: opiáceos, cocaína y otros estimulantes, cannabis, benzodiazepinas, barbitúricos, así como diversos fármacos^{4, 33,34,35,64,65}; por lo que el mismo ha sido usado para documentar la exposición crónica a una droga, intentándose establecer guías internacionales aceptables tanto de los procedimientos operativos, como de criterios de interpretación de los resultados obtenidos. Los avances en la materia confieren gran interés a su uso como matriz alternativa, por lo que se han publicado gran cantidad de trabajos de investigación.

Para la mejor comprensión de los hallazgos de drogas registradas en pelo es necesario conocer su composición, su anatomía, su fisiología y los mecanismos de incorporación. Dichos conocimientos permiten interpretar correctamente los resultados analíticos, teniendo en cuenta además los alcances y limitaciones que ofrece el método elegido y como consecuencia su utilidad. Si bien existe un razonable acuerdo en que los resultados cualitativos obtenidos son válidos en el análisis de pelo, su interpretación y la utilidad de los datos cuantitativos encontrados aún son discutidos y se hallan permanentemente en debate, como reconocen las Naciones Unidas en las reuniones de expertos que periódicamente realizan y que fueron publicadas en el manual ST / NAR / 30 Rev. 1.³⁹

Anatomía y fisiología del pelo

El pelo es un tejido complejo, cuya biología y fisiología continúa siendo materia de estudio. Es un anexo de la piel originado en el folículo piloso donde se encuentran las células germinativas que dan origen a los distintos estratos del pelo, incluyendo la cutícula y la médula.

Hay similitudes estructurales básicas entre los pelos de distintos colores, origen étnico y de diferentes regiones del cuerpo²⁹. Los fundamentos de la composición del pelo, la anatomía y la fisiología han sido expuestos por Harkey²⁸, Cone³, y Joseph⁵⁰ entre otros autores.

Morfológicamente está constituido por: cutícula, corteza, médula, gránulos de melanina y células complejas de la membrana. Cada uno es diferente tanto en su morfología como en su composición química. El número de folículos pilosos en la cabeza del ser humano se encuentra entre 80.000 y 100.000, pero éstos disminuyen con la edad. Los folículos emergen de la dermis de la piel y se encuentran altamente vascularizados para alimentar y permitir el crecimiento del bulbo y de la raíz.

El bulbo, donde se encuentra el folículo, contiene células

de la matriz que ascienden al lecho del pelo incluyendo cutícula, corteza y médula. Estas células presentan la capacidad de cambiar morfológica y estructuralmente durante el crecimiento, formando así distintas clases de pelo, que pueden distinguirse entre ellos porque difieren en la calidad y en la cantidad de proteínas y pigmentos que contienen.^{38,39}

La estructura básica del pelo consiste en dos o tres cadenas de queratina entrecruzadas en hebras denominadas microfibrillas, las que se encuentran organizadas en haces, abarcando todo el volumen de la corteza. Las hebras están estabilizadas y adquieren su forma mediante uniones S-S, que a su vez se entrecruzan con diferentes proteínas haciendo que el pelo adquiera una estructura semicristalina, altamente estable.³⁹

En el folículo se hallan las células germinativas, que están en activa proliferación mientras que en su extensión o hebra el metabolismo residual es prácticamente insignificante. En el folículo del pelo han sido identificadas enzimas de la familia del citocromo P 450 y otras, lo que presupondría que pudieran desarrollarse procesos metabólicos de drogas dentro de la estructura pilosa. Sin embargo, esa capacidad está restringida debido a que la queratinización del pelo las inmoviliza, en un proceso de entre dos a tres días de duración.^{52,53}

En la estructura del pelo se aprecia la cutícula –capa protectora de células epiteliales- que es la capa más externa del pelo, a la que le sigue una intermedia que es la corteza y la más interna que es la médula. La función de la cutícula sería la de proteger de la agresión del ambiente a las células de la corteza como, por ejemplo, radiación ultravioleta, agentes químicos y estrés mecánico. A medida que el pelo envejece hay una degradación gradual de las células de la cutícula a lo largo de todo el pelo y por ende de su función protectora.⁴⁸

Otra eventualidad a considerar es que la cutícula pueda perderse total o parcialmente en casos de enfermedades del pelo así como por tratamientos cosméticos, radiación ultravioleta, etc., factores que pueden influir en la fijación y estabilidad de drogas en el mismo. Su dureza y fortaleza estará determinada por la síntesis de proteínas dentro de las células de la matriz, pudiendo adquirir pigmentos y cantidades variables de melanina o ambas durante la diferenciación celular, que le confieren su color final.^{6, 19, 20, 21, 22, 38, 47}

Composición química del pelo

El pelo humano en general, contiene en su composición: proteínas fibrosas -65 % a 95 % con alto porcentual de keratinas-, lípidos -1 a 9%-, melaninas -en porcentajes variables según el color del pelo-, sales minerales -0.25 a 0.95%-, agua -15 a 35 %-, polisacáridos, aminoácidos como glicina, treonina, lisina, cisteína, tirosina y ácidos glutámico y aspártico. El pH de la matriz pilosa es de carácter ácido.^{28,47}

Crecimiento del pelo

Los folículos pilosos continúan su desarrollo por un nú-

mero variable de años pasando por distintas fases durante un ciclo normal de crecimiento. En el pelo humano procedente de distintas partes del cuerpo - cuero cabelludo, pú-bis, axila, tórax, extremidades, etc.- se reconocen tres fases de crecimiento: anagénica, catagénica y telogénica.⁵² En el caso particular del cabello humano aproximadamente entre un 85 a 90 % se encuentra en fase de crecimiento o anagénica que dura entre 4 y 6 años, la fase catagénica involucra a una pequeña porción del material piloso en la cual comienza la disminución de su crecimiento, abarcando la misma de dos a tres semanas, siendo rápidamente seguida por la fase telogénica o de reposo en la cual no hay crecimiento y que dura de 4 a 6 meses. Aproximadamente entre un 10 a 15 % del pelo del cuero cabelludo se encuentra todo el tiempo en la fase telogénica.

El largo del pelo y su grosor dependen de la duración de cada una de esas fases, así como del índice de crecimiento. Es muy importante destacar que la duración de cada una de ellas, varía de una persona a otra y aún en una misma persona en las distintas zonas del cuero cabelludo.

Otro aspecto a tener en cuenta, y no de menor importancia, es que hay sustanciales diferencias en el rango de crecimiento en la relación fase anagénica / fase telogénica entre el pelo de cuero cabelludo y el de otras regiones del cuerpo, cuya razón no ha sido aún aceptablemente explicada. Por ejemplo, la fase telogénica del pelo púbico ocupa prácticamente la mitad de la vida total del pelo.^{29,52}

La velocidad de crecimiento del cabello humano oscila aproximadamente entre 0.3 y 1.8 cm /mes, presentando diferencias debidas a sexo, edad, y etnicidad. También se observan variaciones entre pelos del cuero cabelludo respecto del de otras regiones del cuerpo, como ser: axilar, torácico, púbico, etc.; es muy importante tener en cuenta que en pelo de igual localización, como ser pelo de cuero cabelludo, hay sustanciales diferencias en su crecimiento entre distintos individuos y que en un mismo individuo varía según las épocas estacionales, el estrés, la alimentación, enfermedades de distinta etiología, alteraciones metabólicas, hormonales y otras.^{2, 20-22, 29, 37, 39,51}

Incorporación de drogas a la matriz pilosa

No está totalmente clarificado el mecanismo de incorporación de drogas a la matriz pilosa, por lo que se proponen varios mecanismos, como difusión pasiva desde la sangre a las células en crecimiento del folículo piloso o durante la formación del eje piloso, difusión o transferencia desde secreciones como el sudor, el sebo, y la contaminación externa ambiental después de la formación del pelo.⁶

Se denomina "sebo" a un material lipídico excretado por las glándulas sebáceas, que cubre el cuero cabelludo emergiendo desde el folículo hacia la superficie de la piel en cantidad de alrededor de 0,2 a 0,6 mg/h por cada 10 cm² de superficie del cuerpo humano. Es una especie de estrato córneo plástico lipídico de aproximadamente pH 5, ubicado sobre la piel y otras superficies del cuerpo, que actúa como

lubricante de la misma. Esas glándulas se hallan asociadas principalmente a los folículos pilosos, aunque algunas tienen ductos que les permiten secretar sebo directamente a la superficie no pilosa de la piel. El sebo está constituido, aproximadamente, en proporción de tercios de cada una de las siguientes sustancias: ácidos grasos libres, ácidos grasos combinados y materia insaponificable que incluye escualeno, colesterol y ceras.

Henderson²³ sostiene, que las drogas pueden incorporarse al pelo en distintos sitios, por distintos mecanismos y en varios momentos del ciclo de su crecimiento. Esas características tienen gran relevancia a la hora de interpretar la presencia de drogas en distintos segmentos del pelo cuando se aplica la técnica denominada de "pelo segmentado". Esta técnica se basa en marcar la zona más próxima al cuero cabelludo, cortándola en segmentos hacia la parte distal, que son analizados individualmente. Generalmente, dichos cortes se efectúan dividiendo la muestra en fragmentos de 1 cm, considerando que cada segmento correspondería al crecimiento de un mes. Si se asume un crecimiento de 1 cm/mes previo al análisis de los distintos segmentos, se podría determinar retrospectivamente el momento de la exposición a una droga de acuerdo con la fracción en que se ha detectado la misma.^{5, 9, 13, 14, 15, 23, 37} Esta suposición es discutible por cuanto, como se dijera con anterioridad, el crecimiento oscila aproximadamente entre 0,3 y 1,8 cm/mes.

Ampliando sus estudios, Henderson y col.²³ administraron a un grupo de individuos cocaína marcada (deuterada) por vía endovenosa, habiendo hallado amplias diferencias interindividuales tanto en el tiempo -de horas a días- en que aparecía la droga como en los segmentos en que se la hallaba. En dicho estudio en el caso de una única administración, la droga fue detectada en diferentes segmentos pilosos, mientras que en los casos en que se habían administrado múltiples dosis, la droga se hallaba en un área restringida. Los autores sugieren que la variabilidad observada entre sujetos ante la administración de una misma dosis de cocaína y la fijada al pelo, podría deberse a diferencias en la secreción de sudor y sebo, ya que la droga que se encuentra en estas secreciones se pondría en íntimo contacto con el folículo piloso y al mismo tiempo bañaría las hebras de pelo, permitiendo la detección en unas pocas horas siguientes a la administración de una dosis y además que la misma se distribuya en más de un segmento.⁶⁶

Kidwell y Blank³¹ sugieren que la mayor contribución de drogas en el pelo proviene del sudor y de la secreción sebácea que lo impregna, tanto durante su formación como en su maduración. Sin embargo, aún se desconoce en cuanto contribuyen al depósito de drogas en él.

Las drogas, sus metabolitos o ambos se distribuyen desde la sangre básicamente por difusión pasiva a lo largo del cuerpo del pelo. La distribución de drogas a través de las membranas celulares es facilitada generalmente por su solubilidad lipídica, su baja unión a proteínas y a otros factores tales como la concentración en la sangre de su forma no io-

nizada. La difusión de drogas desde los capilares de sangre arterial a las células de la matriz en la base del folículo es considerada la causa principal de fijación de drogas por el pelo, las que presumiblemente se unen a los pigmentos y otros componentes de la matriz pilosa.^{7, 8, 14, 15, 22, 23,29}

Un estudio realizado en voluntarias por Faergemann y col.⁴ sobre la disposición de un agente antifúngico sintético - la terbinafina - resulta interesante porque ayuda a comprender aún más los mecanismos de distribución de drogas en las diferentes matrices biológicas. En la población estudiada los autores hallaron la droga mencionada en plasma, suero, sebo, pelo, uñas, dermis/epidermis y estrato córneo, durante y después de la administración de una dosis oral durante cuatro semanas. Las concentraciones más altas de terbinafina, correspondieron al sebo, seguidas en orden decreciente por el estrato córneo, el pelo, el plasma y las uñas. La droga pudo aún ser detectada en el sebo, la piel, el pelo y las uñas a más de 44 días de haber finalizado la administración de la droga, la que sin embargo no fue hallada en el sudor. Los autores del estudio concluyen que la terbinafina fue distribuida al estrato córneo por medio del sebo y en menor medida por difusión directa a través de la dermis-epidermis.

Los analitos predominantemente encontrados en pelo son las drogas intactas -sin metabolizar- a diferencia de la orina en la que predominan los metabolitos, generalmente más polares. Esto es importante de tener en cuenta dado que, por ejemplo, la Cocaína es rápidamente metabolizada a Benzoilecgonina, por lo que sólo está presente en la sangre por unas pocas horas luego de su administración. La Benzoilecgonina persiste en la sangre durante 24 o más horas. La Cocaína es excretada en sudor en un período de entre 2 y 48 horas, y debido a esa amplitud temporal se ve facilitada la transferencia de la droga hacia el pelo. Lo antedicho pone de manifiesto que el sudor juega un papel importante en la incorporación de drogas en la matriz pilosa.^{6,38}

Desde el punto de vista químico, existen tres factores fundamentales que influyen en la incorporación de una droga al pelo: la afinidad por la melanina, la lipofilia y la forma no ionizada de la droga. Los estudios realizados informan que la melanina juega un rol importante en la incorporación de drogas en el pelo, como ha quedado demostrado en animales, en los que se vio una buena correlación entre la afinidad de una droga por la melanina y su incorporación^{6,64}. Así mismo, en el cabello humano se encontró que la concentración de drogas fijadas al pelo oscuro es mucho mayor que en el claro o el rojizo.^{6, 7, 8, 22, 38,39}

La lipofilidad es un factor clave para la fijación de las drogas en este tipo de matriz, ya que se ha documentado que la cocaína y la heroína se incorporan a la matriz del pelo mejor que la benzoilecgonina; como también la morfina y la metanfetamina lo hacen respecto de la acetil anfetamina, en todos los casos por ser más liposolubles. Lo dicho sugiere que la forma no ionizada de una droga es un factor importante en la fijación de la misma en el pelo⁹.

Una comparación de concentraciones en la relación de área bajo la curva (AUC), entre plasma y pelo, mostró que Cocaína, PCP o Fenciclidina, MDMA -metilendioxi Metanfetamina, conocida como Ecstasis-, son fijadas en mayor medida que el ácido delta⁹-Tetrahidrocanabinol 11-carboxílico que lo hace con mayor dificultad; no obstante lo cual también es hallado en muestras pilosas analizadas.^{10,11,12,65,66}

En cuanto a la polución ambiental, estudios recientemente realizados indican que ésta contamina al pelo, y dificulta la distinción entre la administración voluntaria de una droga y aquella que no lo es, lo que se conoce como administración involuntaria o pasiva. Varios trabajos reportan que la cocaína es absorbida por el pelo cuando se está en un ambiente donde se halla la cocaína base. La presencia de cocaína en la parte externa del pelo puede deberse a una exposición ambiental. Es por eso que se sugiere, que una de las formas de distinguir la droga, proveniente de una contaminación externa de la originada por administración voluntaria, sería la confirmación de sus metabolitos en la estructura íntima del mismo.^{10,18,19,20,21,31,32,38,39,63}

Importancia del lavado de descontaminación en las muestras de pelo

Una de las fases críticas en la extracción de drogas de una muestra pilosa la constituyen las técnicas de lavado que se emplean para remover la droga que se encuentra externamente fijada al pelo, y que si bien pueden ser altamente eficientes, varios estudios indican que esa contaminación externa originada por diferentes formas de exposición puede no ser totalmente eliminada por las técnicas de lavado aunque sean intensivas.^{60,62} Como lo demuestra el caso de los lavados con metanol que removerían solo algo más de un 70 % de la cocaína presente en la parte externa del pelo, pero también restarían cantidades significativas fijadas en el interior de su matriz. Es muy importante tener eso en consideración a la hora de elegir que técnica de lavado se utilizará entre las muchas publicadas.^{31, 32, 38, 39, 54, 58, 59,66}

Consideraciones y recomendaciones

Debido a que las variaciones en el crecimiento del pelo dependen de la región anatómica de donde ha sido obtenida la muestra, la especie, la franja etaria a la cual pertenece el sujeto, la raza y las variaciones individuales, es que hay serias dificultades en la interpretación de la concentración de drogas en el mismo.^{29,35} Es muy difícil estimar las dosis de la droga a partir de la concentración de la misma en éste tipo de matriz porque hay grandes diferencias interindividuales tales como las de texturas, colores, rangos de crecimiento, metabolismo, a las que deben agregarse las que se dan en un mismo individuo y aún en una misma región de su cuerpo. Sin embargo, a partir de la concentración hallada en pelo mediante un análisis segmentado del mismo, algunos estudios han demostrado una correlación certera en el consumo estimado de drogas, pudiendo hablarse de un consumo alto, medio o bajo.^{12,13}

Una especulación sobre la incorporación de drogas dentro de la matriz del pelo es que ésta tiene lugar en la raíz. Si no operara otro mecanismo, esto podría permitir obtener datos sobre el tiempo de administración y dosis mediante la técnica de pelo segmentado. Hay trabajos que sustentan esta hipótesis, sin embargo, las investigaciones recientes proveen evidencia de la presencia de droga intacta dentro del pelo, transferida por secreciones de la piel y por contaminación externa en diferentes regiones de la hebra. Queda claro que los mecanismos de incorporación de drogas en el pelo son muy complejos.^{5, 14, 15}

El pelo puede contaminarse desde el ambiente cuando está expuesto a soluciones o a partículas de droga dispersas en el aire²⁶. Ante un hallazgo positivo en los análisis, pueden realizarse algunas tentativas para distinguir la posible contaminación externa debido a un uso crónico¹⁶, pero este punto ofrece, aún, muchas controversias;^{17, 18, 63} por lo que ante la posibilidad de una contaminación pasiva, se recomiendan cuatro criterios para establecer si la droga hallada podría deberse a una exposición voluntaria. Dichos criterios son: identificación de metabolitos, establecimiento de la relación metabolito-droga, análisis de los lavados de descontaminación y examen de los pelos provenientes de otras regiones del cuerpo. Se ha sugerido que los laboratorios elaboren valores *cut-off* para los diferentes analitos.^{35, 36, 37, 57}

Ha quedado documentado que la estabilidad de drogas en el pelo, aunque generalmente es considerada buena, puede verse comprometida por los tratamientos cosméticos, como las tinturas, los alisados, y las decoloraciones.^{19, 20} El color del pelo, la edad, la especie y las diferencias en su estructura pueden también afectar la concentración de drogas en ésta matriz.^{13, 21, 22}

En cuanto a la presencia de la droga, sus metabolitos y la relación de sus concentraciones, existen algunos trabajos que se destacan entre los muchos publicados, como el de Cone y col.¹⁵ que identificaron norCocaína y etilcocaína en el pelo de adictos a la cocaína. La norCocaína se forma por metabolismo de la cocaína mientras que la etilcocaína ante la presencia simultánea de cocaína y etanol. En el metabolismo de la cocaína hay producción de benzoilecgonina, metilecgonina y pequeñas cantidades de ecgonina, sustancias que también se producen por hidrólisis espontánea de la droga, por lo cual no sería relevante su hallazgo en una muestra ya que podría estar preformada y su presencia ser consecuencia de una exposición ambiental. Para solucionar este problema se sugirió investigar no solo esos metabolitos sino también la presencia de etilcocaína y norCocaína que son sustancias originadas en el metabolismo de la droga madre.^{10, 15, 18, 31, 36, 63, 68}

La identificación de metabolitos de la heroína en pelo puede diferenciar a adictos a ésta de aquellos usuarios de otro tipo de opiáceos, de estructura química similar. Goldberger y col.⁴⁰ identificaron heroína, 6-mono-acetil-morfina y Morfina en el pelo de heroinómanos. La 6-mono-acetil-Morfina es encontrada en altas concentraciones en pelo, a

diferencia de la Morfina conjugada que es el metabolito de mayor concentración en la orina. En el estudio que realizaron en pelos sobre una población de veinte sujetos heroinómanos hallaron Heroína en siete casos y 6-mono-acetil-Morfina en veinte casos. Ninguna droga fue encontrada en el grupo de control constituido por muestras provenientes de sujetos no usuarios de drogas. Este hallazgo lo consideraron altamente significativo y sugirieron considerar a la 6-mono-acetil-Morfina como un marcador específico de los heroinómanos ya que su presencia no puede implicar el uso de otros opiáceos como la Morfina.

Kintz y Manguin^{2, 56} determinaron las concentraciones de morfina y codeína en distintos tipos de pelo humano, como por ejemplo, el de cabellera, el axilar y el púbico en distintos casos de sobredosis de la heroína. Encontraron en sus estudios que la concentración de morfina fue más alta en el pelo púbico, que la hallada en el cabello y aún menor en el axilar. El rango de la relación de codeína/morfina encontrado fue 0.054 a 0.273. Los autores lo justificaron por el menor crecimiento del pelo púbico y la posible contribución de drogas que efectuarían el sudor y la orina.

Durante veinte años se han probado distintos procedimientos analíticos para investigar drogas en pelo y documentado la interpretación de éstos hallazgos. Quedan muchos interrogantes y problemas en la deducción de los resultados analíticos que están aún en etapa de discusión. Pese a lo dicho anteriormente, está generalmente aceptado que los análisis de rutina de drogas en pelo pueden proveer información útil, siempre que los mismos sean sometidos a apropiados y adecuados controles de calidad.³⁹

El análisis del pelo ha sido aceptado en numerosos países, particularmente en los europeos y en los Estados Unidos de América. En la actualidad, el mismo es rutinariamente usado como una herramienta para la detección de drogas en la toxicología clínica, en las ciencias forenses y en la medicina laboral entre otras.

El análisis de drogas en pelo es complementario del uroanálisis por las ventajas que ofrece, las que incluyen una gran ventana de detección, como son la estabilidad de la estructura del pelo y de las drogas fijadas a él, aún durante el almacenaje, como también, el hecho de ser una muestra no invasiva. Las desventajas incluyen las bajas concentraciones de droga usualmente presentes en el pelo y los relativamente complicados procedimientos analíticos requeridos, así como, las dificultades que implica la correcta interpretación de los resultados obtenidos.^{3, 38, 39}

Se recomienda que sea utilizada una técnica de separación altamente específica para la confirmación de los resultados, tanto positivos como negativos. La GC-MS es la técnica más usada con éste propósito. Otra técnica adecuada se basa en el uso de la cromatografía de alto rendimiento -CLAR o por sus siglas inglesas HPLC- o también por electroforesis capilar.^{2, 3, 7, 9, 16, 17, 40, 41, 43}

Es importante recordar que los laboratorios en donde se analiza pelo, deben hallarse separados de los laboratorios

donde se analizan o depositan drogas sujetas a regulación, para que ante un resultado positivo, no pueda haber sospecha de alguna contaminación accidental. En el caso de un primer resultado positivo, si el individuo involucrado adujere que es debido a una contaminación externa o a un error analítico, una segunda muestra puede ser colectada dentro de un lapso de tiempo razonable, no más de unas pocas semanas transcurridas desde la toma de la primera muestra. El resultado de éste segundo análisis convalida el resultado del primero.

El Comité de Expertos de las Naciones Unidas sugiere que los responsables de los laboratorios de análisis validen las técnicas o métodos para ser utilizados en el estudio de muestras de pelo³⁹ y expresa que las investigaciones revisadas para la elaboración de su boletín fueron seleccionadas con el fin de proveer información útil y valiosa.

CONCLUSIONES

Si bien el pelo es un material de excelentes características para su estudio como ya se expresara, no es de menor importancia conocer las limitaciones que posee para arribar a una conclusión con rigor científico.

Actualmente son muy abundantes las publicaciones sobre el análisis de pelo y muy diversos los ensayos a que se lo somete, pero no se debe olvidar "la prudencia" que debe caracterizar a todo investigador y profesional responsable de emitir el informe final, virtud que adquiere especial relevancia ante hallazgos que en un primer momento pueden parecer prometedores. Esto requiere que los resultados deban ser permanentemente sometidos a una rigurosa evaluación científica. Por ello, es altamente significativa la experiencia del profesional en el momento de elaborar las conclusiones del informe de un análisis de éste tipo, más aún, si se tiene en cuenta que el mismo podría ser parte de un proceso judicial, debido a los aspectos personales y patrimoniales que se ponen en juego.^{45, 46, 49}

Por lo expuesto es necesario revisar diversos aspectos en el análisis de pelo. Por otra parte, ya ha quedado establecida su utilidad como matriz alternativa de elección para documentar la exposición crónica a una droga, debido a su amplia ventana de detección que va de meses a años frente a la corta ventana que ofrecen las muestras tradicionales de orina y sangre. Además es una muestra fácil de obtener al ser una práctica no invasiva.

Si bien los mecanismos de incorporación de drogas no han sido aún completamente aclarados, por lo que todavía existe una profunda discusión al respecto, la concentración de éstas, fijadas en el pelo depende de la capacidad química de la sustancia para ser incorporada a la matriz del mismo, así como para ser retenida por su estructura.³⁹ La estabilidad de las drogas, sus metabolitos o ambos fijados en el pelo se mantienen estables durante el almacenamiento, lo cual es importante para el caso de ser necesaria una segunda peritación.

Una posible y fácil forma de contaminación de la mues-

tra pilosa la constituye la toma de la muestra, por lo cual se debe tener la precaución de que todos los elementos utilizados estén perfectamente limpios. Del mismo modo, la totalidad de los pasos analíticos deben ser realizados en un ambiente libre de contaminación de las sustancias del mismo tipo de las que son objeto de investigación.

La técnica de pelo segmentado merece una especial discusión, puesto que según numerosos trabajos científicos, la misma permite realizar un estudio retrospectivo acerca del tiempo de consumo de una droga, mediante el análisis de los distintos segmentos como ya se mencionó anteriormente. Si bien, es una herramienta útil para distinguir una administración o exposición crónica a una droga de una intoxicación aguda, se ha llegado al extremo de sugerir que con dicha técnica podría calcularse hasta la semana y aún el día en que se incorporó la droga. Los estudios realizados se basan en un crecimiento promedio mensual del pelo de 1 cm, cuando en realidad el mismo se produce en un rango que oscila aproximadamente entre 0.3 y 1.8 cm/mes o aún más, dependiendo de numerosos factores, incluso en un mismo individuo, como ya fue expuesto. Es así como los valores reales de crecimiento del cabello denotan una variabilidad mucho mayor del 100 %, aún en el mismo tipo de pelo de un mismo individuo.^{5, 37, 39, 51, 55, 61, 65, 67}

Deben tenerse muy en cuenta los hallazgos registrados por Henderson y col.²³ y las consideraciones realizadas por Robertson y Staikos³⁷ en cuanto a la dificultad de interpretar los resultados obtenidos en un análisis segmentado de pelo, por lo que se debe ser muy cauteloso al sacar conclusiones basadas en esta técnica. Se sugiere, si se desea realizar un estudio retrospectivo,²⁶ analizar separadamente la zona proximal al cuero cabelludo, la media y la distal para así establecer si la exposición ha sido en un período de tiempo cercano al de la toma de la muestra o alejado de él, pero sin inferir tiempos exactos.

Sin embargo, ese problema no quedaría totalmente aclarado aunque se tomen en cuenta las recomendaciones del Comité de Expertos de Naciones Unidas³⁹ y de la Hair Testing Society³⁰, pues son demasiadas las dudas que existen en cuanto a la etiología de los metabolitos, a la adecuada interpretación de la relación metabolito-droga, y a la comparación con los resultados de los análisis de pelo de otras regiones del cuerpo, dado que si hay una incorporación pasiva de la droga ésta se absorberá, se distribuirá y se fijará en la matriz pilosa.⁶³

Otro aspecto a tener en cuenta es que en los análisis a realizar se incluya la búsqueda de analitos que correspondan a sustancias no reguladas por la ley, que sean adulterantes o sustancias de corte tales como la Lidocaína. Esas sustancias están frecuentemente presentes en la Cocaína o la Heroína que se comercializa en "la calle", así como otras usadas en el tratamiento de rehabilitación y soporte del adicto, como es la Carbamazepina, cuyo hallazgo conjunto con una droga de abuso aporta datos de importancia para emitir conclusiones.²⁶

Es una realidad el hecho de que no se puede determinar la concentración de la droga ni los tiempos de exposición, debido al gran número de factores que influyen en la fijación de tóxicos en la matriz pilosa una vez producida la absorción de los mismos. Tampoco se puede decidir respecto a la posibilidad de que el pelo analizado corresponda a un sujeto que ha incorporado la droga en forma activa o pasiva.^{63,64} El solo hecho de estar en un ambiente donde la misma esté presente, puede, por contaminación superficial de distintas partes del cuerpo o por vía inhalatoria pasiva hacer que la misma quede fijada en el pelo, dando un resultado positivo. Todo ello constituye una dificultad en cuanto a la interpretación de hallazgos de drogas en pelo. Por ello, solamente se puede afirmar que el individuo en algún momento estuvo expuesto a la droga o a las drogas.^{25,26,31,32,57,63,67}

Pese a que continúan las discusiones y son sometidos a revisión los numerosos estudios que tratan distintos aspectos de esta matriz alternativa, es innegable su aporte, ya que a veces es la única muestra biológica posible de ser estudiada. Es importante destacar que este tipo de determinaciones posee las limitaciones de todo trabajo científico y que constituye un estudio analítico más para ilustrar a los magistrados, profesionales o ambos, sobre los elementos a evaluar en el proceso judicial. En tal sentido Perkins, Locani y Lorenzo^{25,26} pusieron de relieve la cautela con que se deben interpretar los hallazgos de drogas en pelo.

Recientemente LeBeau y Montgomery del laboratorio del FBI -Federal Bureau of Investigation-, han publicado una nota al Editor del *Journal of Analytical Toxicology*, dando a conocer la decisión de esa repartición en el sentido de suspender los estudios de cocaína en pelo. Su posición se fundamenta en que el hallazgo de esa droga en la matriz pilosa no permite asegurar su etiología, ya que puede deberse a la exposición del sujeto, tanto a un contacto involuntario como a uno voluntario. Mientras los hallazgos de cocaína en pelo no permitan una interpretación más sustentable científicamente, el laboratorio del FBI limita este tipo de estudios solo a los casos donde estén involucrados niños.²⁴

En respuesta a la decisión adoptada por el laboratorio del FBI, Pragst, Sachs y Kintz⁴⁴ responden argumentando que el análisis de cocaína en el pelo continúa siendo una valiosa herramienta en la Toxicología Clínica y Forense. LeBeau y Montgomery replican que coinciden en la utilidad de los análisis de drogas en pelo, visto que, de hecho el laboratorio del FBI continúa realizando estudios de numerosas drogas que no presentan dificultades en la interpretación de los resultados, a diferencia de las que ofrece la cocaína e insisten en su posición original.

Por lo ya expuesto es trascendente seguir investigando y ampliando el espectro analítico sobre nuevas matrices alternativas a aplicarse en áreas como la de la detección de drogas, tratamiento, investigación forense y otras. Los hallazgos obtenidos permitirían ampliar los conocimientos que complementen la información sobre la posible causa del óbito o de la intoxicación, como así también, sobre la his-

toria previa del sujeto sospechado de una adicción.

Referencias bibliográficas

1. Baumgartner AM, Jones PF, Baumgartner WA, Black CT. Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories. *J Nucl Med* 1979; 20; (7):748-752.
2. Kintz P, Mangin P. Simultaneous determination of opiates, cocaine and major metabolites of cocaine in human hair by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Forensic Sci Int* 1995; 73 (2):93-100.
3. Henderson GL, Harkey MR, Jones RT. Analysis of Hair for Cocaine. En: Cone EJ, Welch MJ, Grigson Babecki MB, eds. *Hair Testing for Drugs of Abuse: International Research on Standards and Technology*. Pp.372-377. Rockville: NIH Publication, 1995.
4. Faergemann J, Zehender H, Denouël J, Millerioux L. Levels of terbinafine in plasma, stratum corneum, dermis-epidermis, sebum, hair and nails during and after 250 mg terbinafine orally once per day for four weeks. *Acta Derm Venereol* 1993; 73(4):305-308.
5. Schneider S, Ait-M-Bark Z, Schummer C, Lemmer P, Yegles M, Appenzeller B, Wennig R. Determination of fentanyl in sweat and hair of a patient using transdermal patches. *J Anal Toxicol* 2008; 32(3):260-264.
6. Nakahara Y, Takahashi K, Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse. X. Effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair. *Biol Pharm Bull* 1995; 18(9):1223-1227.
7. Slawson MH, Wilkins DC, Foltz RL, Rollins DE. Quantitative Determination of Phencyclidine in Pigmented and Nonpigmented Hair by Ion-Trap Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol* 1996; 20(6):355-361.
8. Uematsu T, Miyazawa N, Okazaki O, Nakashima M. Possible effect of pigment on the pharmacokinetics of ofloxacin and its excretion in hair. *J Pharm Sci* 1992; 81 (1):45-48.
9. Nakahara Y, Kikura R, Takahashi K. Hair analysis for drugs of abuse VIII. Effective extraction and determination of 6-acetylmorphine and morphine in hair with trifluoroacetic acid—methanol for the confirmation of retrospective heroin use by gas chromatography—mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1994; 657(1):93-101.
10. Nakahara Y, Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse. VII. The incorporation rates of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester into rat hair and hydrolysis of cocaine in rat hair. *Arch Toxicol* 1994; 68(1):54-59.
11. Nakahara Y, Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse XIII. Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair: the incorporation rates of amphetamine analogs. *Arch Toxicol* 1996; 70(12):841-849.
12. Nakahara Y, Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse. XVIII. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) disposition in hair roots and use in identification of acute MDMA poisoning. *Biol Pharm Bull* 1997; 20(9):969-

- 972.
13. Wilkins DG, Haughey HM, Krueger GG, Rollins DE. Disposition of codeine in female human hair after multiple-dose administration. *J Anal Toxicol* 1995; 19(6):492-498.
 14. Henderson GL. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):19-29.
 15. Cone EJ. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Ther Drug Monit* 1996; 18(4):438-443.
 16. Baumgartner WA, Hill VA. Sample preparation techniques. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):121-135.
 17. Kindwell DA, Blank DL. Comments on the paper by W.A. Baumgartner and V.A. Hill: sample preparation techniques. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):137-143.
 18. Baumgartner WA, Hill VA. Comments on the paper by David L. Blank and David A. Kidwell: External contamination of hair by cocaine: an issue in forensic interpretation. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):157-160.
 19. Crimele V, Kintz P, Mangin P. Drug concentration in human hair after bleaching. *J Anal Toxicol* 1995; 19(5):331-332.
 20. Jurado C, Kintz P, Menéndez M, Repetto M. Influence of the cosmetic treatment of hair on drug testing. *Int J Legal Med* 1997; 110(3):159-163.
 21. Skopp GL, Pötsch L, Moeller MR. On cosmetically treated hair--aspects and pitfalls of interpretation. *Forensic Sci Int* 1997; 84(1-3):43-52.
 22. Green SJ, Wilson JF. The effect of hair color on the incorporation of methadone into hair in the rat. *J Anal Toxicol* 1996; 20(2):121-123.
 23. Henderson GL, Harkey MR, Zhou C, Jones RT, Peyton J. Incorporation of isotopically labeled cocaine and metabolites into human hair: 1. dose-response relationships. *J Anal Toxicol* 1996; 20(1):1-12.
 24. LeBeau MA, Montgomery MA. Considerations on the utility of hair analysis for cocaine. *J Anal Toxicol* 2009; 33(6):343-344.
 25. Perkins de Piacentino AM, Locani OA, Lorenzo JL. Drogas en pelo: sus alcances y limitaciones I. *Cuadernos de Medicina Forense* 2004;(1):31-41.
 26. Perkins de Piacentino AM, Locani OA, Lorenzo JL. Drogas en pelo: sus alcances y limitaciones II, experiencia del laboratorio de toxicología y química legal en el análisis de pelo. *Cuadernos de Medicina Forense* 2005;(1):25-38.
 27. Sachs H. History of hair analysis. *Forensic Sci Int* 1993; 84(1-3):7-16.
 28. Harkey MR. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):9-18.
 29. Offidani C, Strano Rossi S, Chiarotti M. Drug distribution in the head, axillary and pubic hair of chronic addicts. *Forensic Sci Int* 1997; 63(1-3):105-108.
 30. Society of hair testing. *Forensic Sci Int* 1997; 84(1-3):3-6.
 31. Kindwell DA, Blank DL. Environmental exposure – the stumbling block of hair testing. En: Kintz P, ed. *Drug Testing in Hair*. Pp.17-68. Boca raton: CRC Press, 1996.
 32. Blank DL, Kidwell DA. External contamination of hair by cocaine: an issue in forensic interpretation. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):145-156.
 33. Klinzig F, Vinner E, Brassart C, Houdain E, Humbert L, Lhermitte M. Hair analysis by LC-MS as evidence of nalbuphine abuse by a nurse. *J Anal Toxicol* 2007; 31(1):62-65.
 34. Sticht G, Sevecke K, Käferstein H, Döpfner M, Rothschild MA. Detection of methylphenidate in the hair of children treated with Ritalin. *J Anal Toxicol* 2007; 31(9):588-591.
 35. Cairns T, Kippenberger DJ, Gordon AM. Hair analysis for the detection of drugs of abuse. En: Wong SHY, Sunshine I, eds. *Handbook of Analytical Therapeutic Drug Monitoring and Toxicology*. Pp. 237-251. Boca Raton: CRC Press, 1997.
 36. Kintz P, Mangin P. What constitutes a positive result in hair analysis: proposal for the establishment of cut-off values. *Forensic Sci Int* 1995; 70(1-3):3-11.
 37. Robertson M, Staikos V. Case report – segmental analysis of hair in an alleged drug-facilitated sexual assault – the pros and cons of segmental analysis and why results are rarely black and white. *TIAFT Bulletin* 2011; 41(3):18-19.
 38. Huestis MA, Cone EJ. *Alternative Testing Matrices*. En Karch SB, ed. *Drug Abuse Handbook*. Pp. 816-821. Boca Raton: CRC Press, 1997.
 39. United Nations International Drug Control Programme. *Guidelines for testing drugs under international control in hair, sweat and saliva*. Pp.4-10. New York: United Nations, 2001.
 40. Goldberger BA, Darwin WD, Grant TM, Allen AC, Caplan YH, Cone EJ. Measurement of heroin and its metabolites by isotope-dilution electron-impact mass spectrometry. *Clin Chem* 1993; 39(4):670-675.
 41. Tebbett IR. *Drug Analysis Using Hair*. En: Robertson J, ed. *Forensic Examination of Hair*. Pp.207-223. London: Taylor & Francis, 1999.
 42. Drummer OH, Odell M. *The Forensic Pharmacology of Drugs of Abuse*. Pp.12-14. London: Arnold, 2001.
 43. Miller EI, Wylie FM, Oliver JS. Simultaneous detection and quantification of amphetamines, diazepam and its metabolites, cocaine and its metabolites, and opiates in hair by LC-ESI-MS-MS using a single extraction method. *J Anal Toxicol* 2008; 32(7):547-469.
 44. Pragst F, Sachs H, Kintz P. Hair analysis for cocaine continues to be a valuable tool in forensic and clinical toxicology. *J Anal Toxicol* 2010; 34(6):354-355.
 45. Bonnet EFP. *Medicina Legal*. Pp.305-306. Buenos Aires: López Libreros Editores, 1967.
 46. Bonnet EFP. *Lecciones de Medicina Legal*. Pp.25-30. Buenos Aires: López Libreros Editores, 1984.
 47. Villanueva Cañadas E. *Los Indicios en Medicina Legal*.

- En Gisbert Calabuig JA, Villanueva Cañadas E, eds. *Medicina Legal y Toxicología*. Pp.1123-1127. Barcelona: Masson, 2004.
48. Geneser F. *Histología*. Pp 365-372. Editorial Médica Panamericana, 1994.
 49. Rojas, N. *Medicina Legal*. Pp.12-25. Buenos Aires: El Ateneo, 1936.
 50. Joseph RE, Su TP, Cone EJ. In vitro binding studies of drugs to hair: influence of melanin and lipids on cocaine binding to Caucasoïd and Africoïd hair. *J Anal Toxicol* 1996; 20(6):338-344.
 51. Henderson GL. The kinetics of the uptake of drug into hair. 2nd International Meeting on Clinical and Forensic Aspects of Hair Analysis 1994 A: 16.
 52. Matoltsy AG. What is keratin? En Montagna W, Dobson RL, eds. *Advances in Biology of Skin: Hair Growth*. Pp.559-563. Braunschweig: Pergamon Press, 1967.
 53. Matoltsy AG. The chemistry of keratinization. En Montagna W, Ellis RA, eds. *The Biology of Hair Growth*. Pp.135-138. New York: Academic Press, 1958.
 54. Sachs H, Moeller MR. Quantitative results of drugs in hair using different extraction methods. En Cone EJ, Welch MJ, eds. *Hair testing for drugs of abuse: International Research on Standards and Technology*. Pp.196-200. Rockville: NIH Publication, 1995.
 55. Uematsu T, Sato R, Suzuki K, Yamaguchi S, Nakashima M. Human scalp hair as evidence of individual dosage history of haloperidol: method and retrospective study. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 37(3):239-244.
 56. Mangin P, Kintz P. Variability of opiates concentrations in human hair according to their anatomical origin: head, axillary and pubic regions. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1-3):77-83.
 57. Koren G, Klein J, Forman R, Graham K. Hair analysis of cocaine: differentiation between systemic exposure and external contamination. *J Clin Pharmacol* 1992; 32(7):671-675.
 58. Wang WL, Cone EJ. Testing human hair for drugs of abuse. IV. Environmental cocaine contamination and washing effects. *Forensic Sci Int* 1995; 70(1-3):39-51.
 59. Cone EJ, Yousefnejad D, Darwin WD, Maguire T. Testing human hair for drugs of abuse. II. Identification of unique cocaine metabolites in hair of drug abusers and evaluation of decontamination procedures. *J Anal Toxicol* 1991;15(5):250-255.
 60. Blank DL, Kidwell DA. Decontamination procedures for drugs of abuse in hair: are they sufficient? *Forensic Sci Int* 1995; 15(1-3):13-38.
 61. Schneider S, Ait-M-Bark Z, Schummer C, Lemmer P, Yegles M, Appenzeller B, Wennig R. Determination of fentanyl in sweat and hair of a patient using transdermal patches. *J Anal Toxicol* 2008; 32(3):260-264.
 62. Stout PR, Roper-Miller JD, Baylor MR, Mitchell JM. External contamination of hair with cocaine: evaluation of external cocaine contamination and development of performance-testing materials. *J Anal Toxicol* 2006; 30(8):490-500.
 63. Roper-Miller JD, Huestis MA, Stout PR. Cocaine analytes in human hair: evaluation of concentration ratios in different cocaine sources, drug-user populations and surface-contaminated specimens. *J Anal Toxicol* 2012; 36(6):390-398.
 64. Vulić A, Pleadin J, Perši N, Stojković R, Ivanković S. Accumulation of β -agonists clenbuterol and salbutamol in black and white mouse hair. *J Anal Toxicol* 2011; 35(8):566-570.
 65. Han E, Chung H, Song JM. Segmental hair analysis for 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol -9-carboxylic acid and the patterns of cannabis use. *J Anal Toxicol* 2012; 36(3):195-200.
 66. Cordero R, Lee S, Paterson S. Distribution of concentrations of cocaine and its metabolites in hair collected postmortem from cases with diverse causes/circumstances of death. *J Anal Toxicol* 2010; 34(9):543-548.
 67. Beyer J, Laberke P, Klemm C, Hausmann R. Case report - Is hair analysis a reliable tool for determining the drug history in a fatal overdose? *TIAFT Bulletin* 2013; 43(2):30-33.
 68. Jones, AW. Perspectives in drug discovery – cocaine. *TIAFT Bulletin* 2013; 43(2):7-13.