



## PRODUÇÃO DE ÁLCOOL ENDÓGENO E A INFLUÊNCIA NAS ANÁLISES TOXICOLÓGICAS

Mariana Eli Sieczko<sup>1</sup>, Eduardo Rodrigues Cabrera<sup>2</sup>, Cleverson Antonio Ferreira Martins<sup>3</sup>

### Resumo

Os laboratórios de Análises toxicológicas são muito solicitados para realizarem exames de dosagem alcoólica. A interpretação é um fato de grande valia, principalmente em casos de decomposição. Quando amostras diferentes de materiais biológicos são analisadas e o álcool só aparece em um deles, a produção desse álcool pode ser atribuída a achados post mortem. Em achados post mortem, os tecidos e fluidos que contenham maiores quantidades de glicose seriam sítios preferências para a produção de etanol. A concentração das substâncias não reflete necessariamente nas concentrações no momento da morte, pois de acordo com o local que é feito a coleta do material biológico, propriedades físico-químicas podem fazer com que o valor das concentrações seja alterado. Em casos de amostras coletadas post mortem seria preciso considerar com muito cuidado o processo de putrefação, pois o álcool pode ser perdido pelo metabolismo e também pela evaporação. Há também possibilidade do álcool analisado ser endógeno, produzido por microrganismos, influenciando a interpretação sobre o álcool exógeno. A toxicologia forense pode usar tipos de matrizes orgânicas como amostras para serem analisadas, porém as mais utilizadas são o sangue, urina e o humor vítreo. A técnica utilizada para as análises é a cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização em chama que permite quantificar o etanol na amostra. As bases de dados utilizadas nesse artigo foram Scielo, Science Direct, Pubmed. O objetivo deste trabalho como forma de revisão, é entender quais os fatores que devem ser levados em consideração na hora das análises, qual a importância em diferenciar álcool endógeno do exógeno.

*Palavras-chave:* Pós-morte. Dosagem alcoólica. Humor Vitreo.

### Abstract

Toxicology testing laboratories are highly requested to perform alcoholic dosage tests. Interpretation is a fact of great value, especially in cases of decomposition. When different samples of biological materials are analyzed and the alcohol only appears in one of them, the production of this alcohol can be attributed to post-mortem findings. In post-mortem findings, tissues and fluids containing higher amounts of glucose would be sites of preference for ethanol production. The concentration of the substances does not necessarily reflect the concentrations at the time of death, because according to the place where the biological material is collected, physico-chemical properties may cause the concentration values to change. In cases of samples collected post mortem one would have to consider very carefully the process of putrefaction, because alcohol can be lost by metabolism and also by evaporation. There is also possibility of the analyzed alcohol being endogenous, produced by microorganisms, influencing the interpretation on exogenous alcohol. Forensic toxicology may use types of organic matrices as samples to be analyzed, but the most commonly used are blood, urine, and the vitreous humor. The technique used for the analysis is the gas chromatography coupled to a flame ionization detector that allows to quantify the ethanol in the sample. The databases used in this article were Scielo, Science Direct, Pubmed. The objective of this work as a form of review is to understand which factors should be taken into account at the time of analysis, what is the importance of differentiating between endogenous and exogenous alcohol.

*Keywords:* Postmortem. Alcoholic dosage. Vitreous humor.

1 Acadêmica do Curso de Bacharelado em Biomedicina da Universidade Tuitui do Paraná, Curitiba, PR. Endereço eletrônico para correspondência: Mariana Eli Sieczko, marisieczko@hotmail.com

2 Farmacêutico, Perito Chefe da Toxicologia Forense da Polícia Científica do Paraná, Curitiba, PR.

3 Farmacêutico, Professor Doutor da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR.



## 1 Introdução

A Toxicologia pode ser dividida em cinco grandes áreas conforme o objeto de análise. Dentre as cinco áreas, destaca-se uma - a Toxicologia Social - da qual uma das sub-áreas, a Forense, tem relação de pertinência com a perícia de natureza criminal. Os conhecimentos da Toxicologia Forense são aplicados ao propósito médico legal a fim de revelar e quantificar quais substâncias estavam possivelmente envolvidas em circunstâncias delituosas, procurando - por exemplo - esclarecer a causa mortis de um desfecho letal violento ou suspeito (AIELLO & PEÇANHA, 2011).

Nestes possíveis cenários, a detecção de etanol destaca-se como bastante importante nas análises toxicológicas, devido à grande prevalência de óbitos relacionados ao etanol. Para interpretar os níveis de álcool em amostras *post mortem* é obrigatória uma análise toxicológica, e esta torna-se difícil devido a alguns fatores como o estado de conservação da amostra, modo de conservação, sinais de putrefação no cadáver, entre outros. Alterações específicas nesses fatores citados, às vezes, desencadeiam falsos positivos ou resultados conflitantes (ISSA, et al., 2009; LAUNIAINEN, 2014).

A literatura técnica em toxicologia sugere que o lugar mais recomendável para as coletas de sangue *post mortem* seja a veia femoral, pois é o local menos suscetível às mudanças típicas do processo de morte, por estar bastante afastado de órgãos, garantindo uma melhor proteção em relação ao efeito de redistribuição *post mortem*. A literatura também aponta como possibilidade adequada coletas do sangue do coração, mais especificamente das câmaras cardíacas direitas para as análises de dosagem alcoólica, entretanto não é sempre que o coração fica intacto em acidentes em que a amostra é proveniente de indivíduos politraumatizados. O pior local para proceder coleta das amostras de sangue seria a cavidade torácica ou abdominal, pois o sangue extravasado para a cavidade pode se misturar com outros fluidos vindos, por exemplo do estômago, dentre eles o próprio etanol ingerido e não absorvido antes da morte (BALSINI, ACHILES, BITTENCOURT & LEITE, ca. 2000).

Somas às questões relativas à coleta há ainda que se considerar que alguns estados orgânicos e fatores relacionados ao desfecho letal podem determinar no organismo uma produção endógena de etanol. Tendo isso claro, o presente estudo tem como objetivo entender a produção de álcool endógeno e a influência do mesmo nas análises toxicológicas, a partir de um percurso teórico que cerca as questões relativas à Perícia Toxicológica no âmbito Forense.

## 2 Metodologia

O presente trabalho é uma revisão de literatura sobre produção de álcool etílico endógeno, onde as bases de dados consultadas foram: Scielo, Science Direct, Pubmed.

Para a seleção dos artigos e textos foram utilizados os seguintes descritores: Álcool Endógeno, Estabilidade de amostra, Dosagem alcoólica.

O período da pesquisa bibliográfica foi realizado entre agosto de 2017 a novembro de 2017, e a revisão contou com trabalhos dos últimos 10 anos.

### 3 Discussão

#### 3.1. Etanol: Toxicocinética e Toxicodinâmica

O etanol é uma substância depressora do sistema nervoso central e está entre as substâncias mais consumidas no mundo, acarretando inúmeros problemas financeiros e familiares. Ele é descrito como uma das causas mais comuns de acidentes de trânsito com ou sem óbitos. O etanol é bem absorvido pelo sistema digestório nas primeiras horas de consumo e, com o passar do tempo, após irritação da mucosa gástrica, sua absorção fica diminuída. No que se refere à distribuição, o álcool não precisa se ligar a proteínas ou qualquer outro tipo de transportador. Sua distribuição depende da quantidade de água no sangue, e o acúmulo de álcool nos tecidos e no sangue é proveniente de maior quantidade de ingestão do que da eliminação. O cérebro e o pulmão são os órgãos que mais tem suprimento sanguíneo, logo são os afetados com maior concentração de álcool. A metabolização é feita através do fígado, por oxidação enzimática e a eliminação é prioritariamente via ar exalado e pela via urinária (MODELLI, 2007).

#### 3.2 Produção de Etanol Post Mortem

No processo tanatológico da morte, após esta, as funções vitais do corpo param e a falta de oxigênio faz com que ocorram mudanças fisiológicas no organismo. Com isso o glicogênio começa a ser degradado e se transforma em ácido láctico no músculo esquelético. Isso faz com que nas primeiras horas durante o estado *post mortem* o pH diminua. Ocorre também a oxidação do piruvato, o término do anabolismo do ATP, resultando em rigidez cadavérica ou *rigor mortis* (PACZKOWSKI & SCHÜTZ, 2011).

Algumas considerações sobre o metabolismo do álcool post mortem são importantes: as enzimas bacterianas agem sobre os carboidratos fazendo que o glicogênio e ou o lactato sejam convertidos em piruvato e então álcool. A sepse e os corpos estocados em ambientes quentes apresentam aceleração na produção de álcool post mortem (RIBEIRO, 2014).

Os laboratórios de Análises Toxicológicas são muito solicitados para exames de dosagem do etanol. A interpretação é um fato muito importante, principalmente em casos de decomposição. Vários microrganismos são capazes de produzir álcool endógeno em cadáveres humanos, dentre eles: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus spp.* e *Candida albicans*. Demonstrem-se capazes de produzir etanol a partir da glicose do corpo e alguns outros substratos como o glicerol, lactato e aminoácidos. Estes são microrganismos responsáveis pela fermentação na flora intestinal como microbiota normal do homem e é preciso



usar alguns critérios para distinguir o álcool *antemortem* do *post mortem* (WINEK JR, WINEK & WAHBA, 1995).

Uma das formas de diferenciação é visualizar a presença de outras substâncias formadas no processo *post mortem*, como o n-propanol e o isopropanol. Quando amostras de fluidos diferentes são analisadas e o álcool só aparece em uma delas, a produção desse álcool pode ser atribuída a achados *post mortem*.

Outra situação de interpretação errônea pode ser a interpretação de sangue de cadáveres politraumatizados onde o conteúdo estomacal pode acabar contaminando o sangue, decorrente da ruptura do estômago ou aspiração de vômito, aumentando a concentração de álcool na aorta ascendente (CARVALHO, FONTES, LIMA, FUZINATO, 2014; OLIVEIRA, CARVALHO & BASTOS, 2015).

Em um trabalho realizado com amostras colhidas *post mortem* a produção de etanol continuou aumentando na mesma proporção que a glicose aumentava, isso devido a algumas espécies de bactérias e leveduras, dentre elas a *Candida albicans* (DAISUKE, 2006).

Os microrganismos migram do intestino para outros lugares, dependendo de sua temperatura bem como a disponibilidade de substrato e integridade das barreiras biológicas. Em estado *post mortem*, os tecidos e fluidos que contenham maiores quantidades de glicose seriam os sítios preferenciais para a produção de etanol. Em indivíduos que possuem diabetes há grande possibilidade de que ocorra síntese alcoólica em matrizes líquidas como o sangue e a urina (OLIVEIRA, CARVALHO & BASTOS, 2015).

### 3.3 Redistribuição Post Mortem

A concentração das substâncias *post mortem* não reflete necessariamente nas concentrações no momento da morte, pois de acordo com o local em que é feito a coleta do material biológico, propriedades físico-químicas podem fazer com que o valor das concentrações seja alterado. É de grande importância avaliar matrizes coletadas de locais diferentes e amostras diferentes para evitar interpretações erradas diante dos resultados (PÉLISSIER, GAULIER, CHAMPSAUR, MARQUET, 2003).

A redistribuição *post mortem* ou necrocinética trata do estudo do agente tóxico no organismo depois do óbito, o que altera as concentrações dos analitos no sangue. A redistribuição varia de acordo com o local feito a coleta do material biológico, propriedades físico-químicas, entre outros inúmeros fatores. A transferência passiva das substâncias envolve o trato gastrointestinal, pulmões e fígado. Pode ocorrer logo após a morte ou devido à autólise, e o processo de putrefação pode vir a ocorrer mais tarde. Muitas enzimas após a morte continuam ativas dificultando as concentrações *ante mortem*. A redistribuição *post mortem* começa nos pulmões depois de duas horas após o óbito, o que causa o aumento na concentração das substâncias na câmara cardíaca e na circulação torácica (CARVALHO, FONTES, LIMA & FUZINATO, 2014; COOK & BRAITHWAITE, 2000).



### 3.4 Quantificação Etanol

A quantidade de álcool no sangue é utilizada regularmente como evidência em casos judiciais, tanto na esfera criminal, civil, trabalhista, dentre outras. Os indivíduos são encaminhados para peritos toxicologistas forenses para que, após a coleta de sangue total, analisem a concentração de álcool presente nessas amostras. Essa análise pode ser fundamental para concluir casos de interesse jurídico, e, portanto social, como dirigir sobre influência de álcool, homicídios, entre outros. Em casos de amostras de sangue coletadas *post mortem* seria preciso considerar com muito cuidado o processo de putrefação, pois o álcool pode ser perdido pelo metabolismo de microrganismos e também pela evaporação (KUGELBERG & JONES, 2007).

#### 3.4.1 Principais Tipos De Amostra

A toxicologia forense pode usar diferentes tipos de matrizes orgânicas como amostras para serem analisadas, porém as mais utilizadas são sangue, urina e humor vítreo (DAVID, BROCCOLI & LIONETTO, 2016):

##### a) Sangue

O sangue ainda é a matriz biológica mais utilizada por conta de sua fácil obtenção e por ser o tecido pelo qual as substâncias são distribuídas no corpo. Em casos *post mortem* é analisado o sangue total e a concentração de drogas e etanol tende a aumentar, tornando os resultados mais sensíveis (RIBEIRO, 2014).

Além disso, é a matriz de eleição para as quantificações, pois é a matriz que melhor correlaciona a quantidade da substância e o efeito tóxico decorrente. Além disso, a legislação acerca da proibição do uso de etanol combinado com direção de veículos gravita em torno das concentrações sanguíneas (alcoolemia) (MELLO & ADURA, 2013).

##### b) Urina

A urina é muito utilizada nas análises toxicológicas, principalmente em análises de triagem – *Screening Tests* -, por ser formada apenas por água, proteínas e lipídeos é uma das matrizes que menos produz interferentes endógenos e apresenta maior concentração de metabólitos. Porém nem sempre médicos legistas podem fazer a coleta da amostra de urina, pois no momento ante morte o indivíduo pode vir a liberar micção e devido ao relaxamento dos esfíncteres ou traumas que obstruem a bexiga, ela pode vir a estar vazia. A urina é sempre usada como análise qualitativa e não quantitativa assim como por exemplo o sangue e o Humor Vítreo (CARVALHO, FONTES, LIMA, FUZINATO, 2014).

##### c) Humor Vítreo

O humor vítreo é a matriz biológica disponível apenas nas análises *post mortem*. É um fluido



que preenche o espaço entre o cristalino e a retina, se encontra na cavidade posterior do olho, configurando uma matriz muito estável e simples. Os níveis de etanol no humor vítreo analisado *post mortem* são muito confiáveis, pois como estão na parte interna do olho, se torna um local de difícil contaminação (LIMA, CONTI, 2009).

O humor vítreo é a amostra preferida para a confirmação da ingestão de etanol *ante morte*, porque a formação de etanol *post mortem* no humor vítreo não ocorre de forma significativa. Até mesmo em casos de morte com estado de putrefação avançada, a matriz permanece estéril. As amostras devem ser coletadas em frascos diferentes, acrescentando fluoreto de sódio, pois ele impede a formação de etanol endógeno. Uma das únicas desvantagens do humor vítreo é a quantidade que pode ser coletada, porque na cavidade ocular de cada olho encontra-se em torno de 3mL (JUNIOR, 2014).

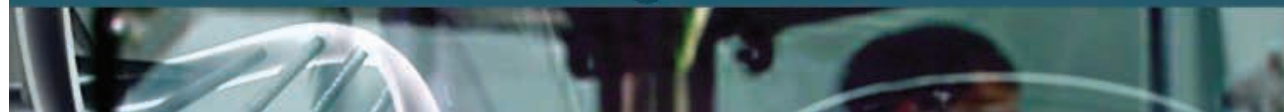
### 3.5 Técnica Analítica

#### 3.5.1 Cromatografia Gasosa Acoplada a Detecção por Ionização em Chama

A técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Detector de Ionização em Chama permite a quantificação do etanol na amostra. A separação do álcool da matriz biológica - para sua consequente quantificação - pode ser realizada através de amostragem utilizando a técnica de *Headspace*. O princípio dessa técnica é a evaporação do etanol da matriz, por meio de um aumento da temperatura, sob agitação, de determinada quantidade da amostra de sangue total inserida em um frasco de *headspace*, fazendo com que as substâncias voláteis se desloquem da matriz para o espaço vazio do compartimento fechado. Depois de obter o gás, ele será coletado e injetado pelo amostrador do cromatógrafo gasoso, onde será feita a separação cromatográfica entre as substâncias voláteis que se encontravam na amostra dentro do frasco de *headspace*. A detecção e quantificação do álcool é então realizada pelo detector de ionização em chama, comparada com uma curva padrão de etanol, com a qual é calculada a concentração do mesmo e corrigida com a relação do padrão interno. O padrão interno é o n-propanol, solvente que tem o mesmo grupo químico do etanol e comportamento cromatográfico semelhante (SOUZA, HI & GONZALEZ, 2014).

#### 3.6 Diferenciação Entre Álcool Endógeno E Exógeno

Uma forma de diferenciar o etanol como exógeno ou endógeno é a presença de metabólitos de putrefação ou outros álcoois nas matrizes analisadas, tais como: n-propanol, isopropanol, n-butanol e acetona em testes de cromatografia. Apesar de também serem metabólitos de outros solventes e também haver a possibilidade de uma intoxicação cruzada, com o aparecimento de uma dessas substâncias, há a possibilidade do álcool analisado ser endógeno, produzido por microrganismos, influenciando a interpretação sobre o álcool exógeno (OLIVEIRA, CARVALHO & BASTOS, 2015).



Uma proposta para que a concentração de álcool no sangue seja interpretada de forma mais fidedigna, principalmente se houver putrefação cadavérica, seria recomendado que, além de sangue, outras matrizes sejam coletadas e analisadas, como por exemplo conteúdo estomacal, humor vítreo, bile, líquido sinovial, líquido cefalorraquidiano, torácico ou intra-abdominal, fluído interno da orelha ou urina, pois a análise destes fluidos corporais, mais ou menos isolados e protegidos em diferentes cavidades corporais com estruturas de tecidos firmes, tenderia a diminuir a incerteza interpretativa vinda da possibilidade de alterações putrefativas devido à propagação bacteriana ou à difusão de álcool (ATHANASELIS, STEFANIDOU & KOUTSELINIS, 2005).

### Considerações Finais

Atualmente a questão do consumo abusivo de bebidas alcoólicas tem sido uma questão muito relevante no mundo e é uma das principais causas de acidentes de trânsito no Brasil. Conseqüentemente ocorre um grande número de óbitos, entretanto a presença de etanol nem sempre é um indicativo do consumo de bebida alcoólica ante morte.

Concluiu-se que o domínio desses fenômenos mal estudados cria grandes dificuldades na interpretação de resultados, fato que a partir do conhecimento da produção do álcool endógeno é possível realizar análises de dosagem alcoólica com menor risco de falsos positivos, não prejudicando as análises toxicológicas e casos judiciais.

Os profissionais da área da saúde, em ênfase os biomédicos toxicologistas devem então, proceder sua rotina com a ideia em mente de que precisam se informar sobre o histórico do cadáver, nesse caso para que possam levar em consideração o tempo do óbito, estado de putrefação, local de coleta, quais suas opções de amostras, para que diminua quaisquer possibilidades de contaminações endógenas em suas rotinas.

### Referências

- AIELLO, T. B & PEÇANHA, M. P. Análises toxicológicas forenses: da ficção científica à realidade. *Revista Eletrônica de Biologia (REB)*. ISSN v.4, n.3, p.1983-7682, 2012.
- ATHANASELIS, S; STEFANIDOU, M; KOUTSELINIS, A. Interpretation of postmortem alcohol concentrations. *Forensic science international*, v. 149, n. 2, p. 289-291. 2005.
- BALSINI, A; LEITE, A. Dosagem alcoólica com propósito forense. Resumo da monografia Metabólitos marcadores do consumo de Etanol. Instituto de Análises Forenses do IGP. Santa Catarina. 3p. [ca. 2000].
- CARVALHO, V.M.; FONTES, L. R.; LIMA, I. V. D; FUZINATO, D. V. *Toxicologia post mortem*. Editora Atheneu. Editores Seizi Oga, Márcia de A. Camargo, José Antonio de O. Batistuzzo. Vol. 4. Cap 8.2. 645p. 2014.
- COOK, D.S.; BRAITHWAITE, R. A.; HALE, K.A. Estimating antemortem drug concentrations from post-mortem blood samples: the influence of post mortem redistribution. *Journal of clinical pathology*, v. 53, n. 4, p. 282-285, 2000.
- DAVID, M. C; BROCCOLI, L; LIONETTO, L. Interpreting Results of ethanol. Carbamazepine and Topiramate in Putrified Postmortem Specimens: A Case Report. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.4, p.45-51, 2016.



ISSA, S. Y; ALDOSSARY, M; ALMAZROUA, M. K; YOUSSEF, M. A. S; ALSOWAYIGH, K; HAMD, M. A; KHAROSHAH, M. Patterns of violent deaths associated with positive ethanol finding in Eastern Province, Saudi Arabia. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, v. 6, n. 4, p. 388-395. 2016.

JUNIOR, J. C. S. Novas técnicas analíticas aplicadas a drogas de abuso presentes em humor vítreo. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de ciências médicas. Campinas, SP. 2014.