

MINISTERIO DE EDUCACION DE LA NACION
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

CONTRIBUCION A LA
INVESTIGACION TOXICOLOGICA
DEL ACIDO CIANHIDRICO

AURELIO FERNANDO POZZI

Año 1956

Señor Decano Interventor

Señoras Profesores

Elevo a vuestra consideración el presente trabajo, cumpliendo con la disposición reglamentaria de nuestra Facultad como requisito para optar al grado de Doctor en Química.

Desee expresar mi agradecimiento al Doctor Danilo C. Vucetich, bajo cuya dirección se realizó el plan de trabajo, como así también al Doctor Omar A. Guagnini por sus oportunas sugerencias.

Para ellos y para todos aquellos, que de una manera u otra contribuyeron a la realización de esta tarea

Muchas gracias.

Padrino de Tesis

Profesor Dr. Danilo C. Vucetich.

- CAPITULO I -

GENERALIDADES

El hallazgo de pequeñísimas cantidades de ácido cianhídrico en una investigación toxicológica de vísceras, se interpretaba hasta hace muy poco tiempo, como una prueba que apoyaba la hipótesis de muerte por ingestión del ácido cianhídrico o sus compuestos.

Si bien la dosis tóxica del ácido cianhídrico es del orden del miligramo por kilogramo de peso, se atribuía siempre el hallazgo de cantidades inferiores al miligramo, al hecho de que el ácido cianhídrico ingerido puede destruirse fácilmente en el organismo por diversas causas, (1), (2). Es por ello que Kohn-Abrcst (3), señala que "las cantidades de veneno encontradas son siempre muy inferiores a las absorbidas y que a veces aún toda traza ha desaparecido de las vísceras. Débiles trazas de ácido cianhídrico aisladas en toxicología son pues susceptibles de tener importancia. Para apreciarla, los elementos de la encuesta, los síntomas presentados por la víctima y el grado de putrefacción de los órganos deberán ser considerados".

Las técnicas empleadas para la investigación y valoración del ácido cianhídrico, entre ellas la del azul de Prusia modificada por Chelle y la técnica volumétrica de Deniges, la primera sensible para 10 microgramos y la segunda para 100 microgramos de ácido cianhídrico, llenaban satisfactoriamente las exigencias de una investigación toxicológica.

Con el procedimiento de Chelle, a veces se comprobaba la presencia de mínimas cantidades de ácido cianhídrico, sin que las constancias sumariales permitieran suponer que la muerte había sido producida por la ingestión de dicho tóxico, en estos casos la duda planteada con respecto al origen de ese ácido cianhídrico, se resolvía razonablemente suponiendo la ingestión de algún vegetal poseedor de glucósidos cianogenéticos, durante la alimentación (se conocen más de 200 especies vegetales que los poseen y muchas de ellas pueden servir de alimento al hombre).

Con la aparición de técnicas más sensibles para la investigación del ácido cianhídrico, como por ejemplo la de Gettler y Goldbaum (4) que permite valorar hasta 0,2 microgramos, y su aplicación en el análisis toxicológico de vísceras, comenzaron a obtenerse resultados inesperados.

En efecto, nosotros empleando este micrométodo hallamos pequeñas cantidades de ácido cianhídrico, en vísceras de personas que habían muerto seguramente por causas ajenas a la ingestión de dicho tóxico.

Por otra parte, Gettler y Baine (5), y luego Truffert (6), habían constatado la presencia de pequeñas cantidades de ácido cianhídrico en vísceras en putrefacción.

Otros autores, entre ellos Boxer y Rickards (7); Fowler y colaboradores (8); Feldstein y Klendshoj (9); habían hallado también pequeñas cantidades de ácido cianhídrico en líquidos biológicos.

Todos estos hechos, nos plantearon la conveniencia de rever la interpretación que debe darse al hallazgo de pequeñas cantidades de ácido cianhídrico en un análisis toxicológico de vísceras.

Para ello adoptamos como técnica de investigación el micrométodo de Gettler y Goldbaum, con el siguiente plan de trabajo:

- 1) Estudio experimental del método de Gettler y Goldbaum para la identificación y valoración del ácido cianhídrico.
- 2) Aplicación del método a la investigación del ácido cianhídrico en vísceras conservadas en cámara fría, pertenecientes a personas cuya muerte no era posible, de acuerdo a las constancias sumariales, atribuir a la ingestión del ácido cianhídrico o de sus compuestos.
- 3) Aplicación del método a la investigación del ácido cianhídrico en vísceras frescas pertenecientes a personas muertas, en las mismas condiciones indicadas anteriormente.
- 4) Aplicación del método a la investigación del ácido cianhídrico en muestras de sangre humana recientemente obtenidas.
- 5) Discusión e interpretación de los resultados obtenidos.

- CAPITULO II -

MICROMETODO COLORIMETRICO DE GETTLER Y GOLDBAUM (4) PARA LA INVESTIGACION Y VALORACION DEL ACIDO CIANHIDRICO.

Este micrométodo está basado en la reacción del azul de Prusia y permite valorar microcantidades de ácido cianhídrico, efectuando la reacción sobre un trozo de papel de filtro impregnado en sulfato ferroso e hidróxido de sodio, a través del cual se hace pasar el ácido cianhídrico.

APARATO (ver figura)

El aparato empleado por nosotros está compuesto por:

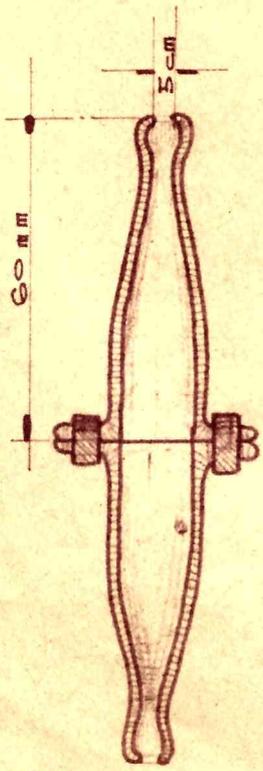
- a) Un tubo de aireación (A) de vidrio Pyrex, de 170 mm. de longitud y de 20 mm. de diámetro, cerrado por un tapón de goma a través del cual pasan dos tubos de vidrio de 5 mm. de diámetro.
- b) Un soporte (B) para mantener en posición al papel reactivo, de manera que sea atravesado por la corriente gaseosa. Dicho soporte, está constituido por un par de discos planos de vidrio esmerilado. Cada disco se continúa por un tubo de vidrio y posee además dos agarraderas del mismo material, que permite unirlos perfectamente mediante bandas de goma, intercalando previamente el papel reactivo.
- c) Una bomba de agua, para aplicar succión, cuyo caudal se regula a 6 litros de agua por minuto.

REACTIVOS

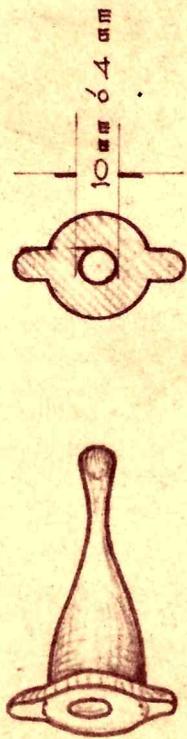
En este micrométodo se emplean los siguientes reactivos:

- 1) Solución de sulfato ferroso al 10%, recién preparada, con cristales previamente lavados con agua destilada. Esta solución se altera rápidamente.
- 2) Solución de hidróxido de sodio al 20%.
- 3) Solución de ácido sulfúrico al 50%.
- 4) Solución de ácido tricloroacético al 20%.

DIAGRAMA DEL SOPORTE

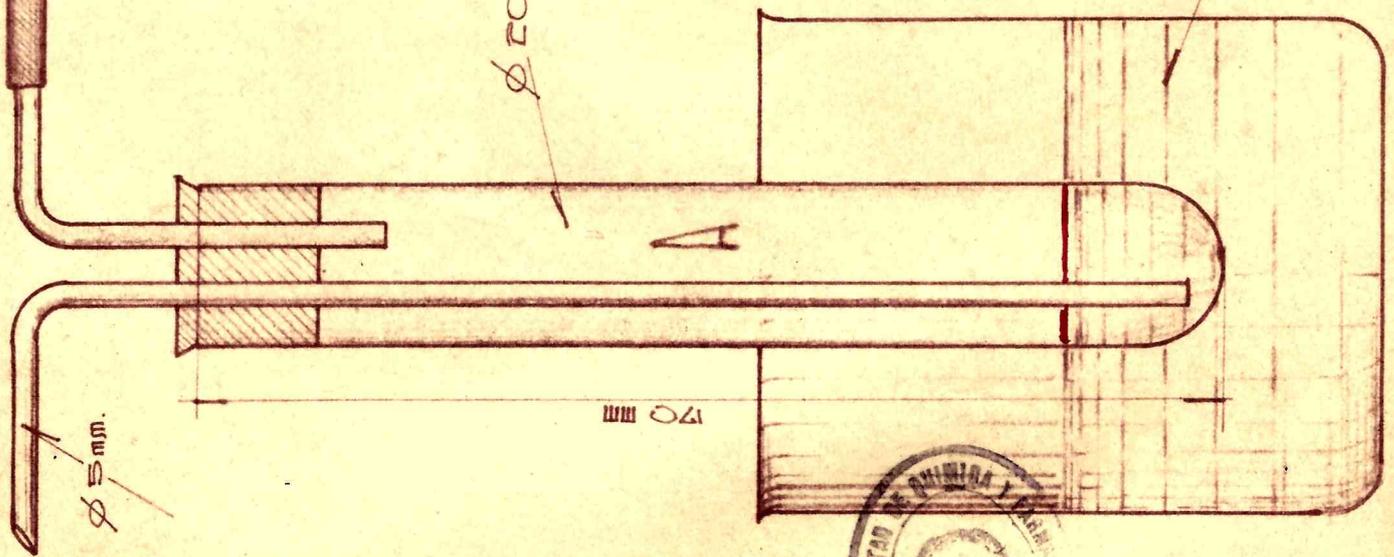
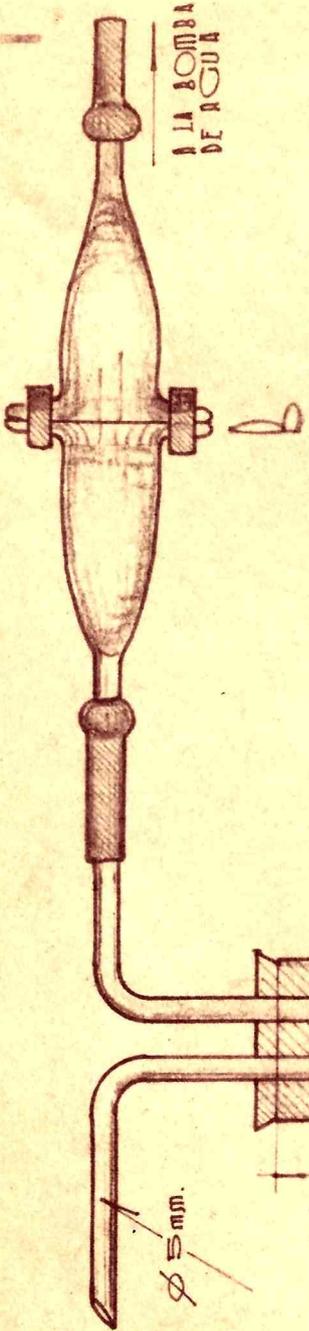


VISTA LATERAL (DOS UNIDADES)



VISTA OBLICUA Y VISTA TERMINAL DE UNA UNIDAD

APARATO DE GUTHRIE y GOLDBAUM



5) Solución de ácido clorhídrico al 25%.

PREPARACION DEL PAPEL REACTIVO

De acuerdo a los resultados experimentales que se describen más adelante, el papel reactivo se prepara de la siguiente manera:

Una hoja de papel de filtro Whatman número 50 de 15 cm. de diámetro, se sumerge durante 5 minutos en la solución de sulfato ferroso al 10%. Se retira de la solución, se suspende con una pinza y se deja secar al aire. Una vez seco, se sumerge en la solución de hidróxido de sodio al 20%, se deja impregnar bien y se seca nuevamente al aire, hasta que tenga un ligero grado de humedad. Los papeles así preparados, deben utilizarse de inmediato. Para su empleo, se cortan círculos del tamaño del soporte que se utilice.

TECNICA EMPLEADA

Dos mililitros de sangre, o dos gramos de vísceras finamente divididas se colocan en el tubo de aireación y se le agregan 3 ml. de agua destilada y 2 ml. de solución de ácido tricloroacético al 20% para acidificar y evitar al mismo tiempo la formación de espuma.

Si se trata de soluciones, a 2 ml. se le agregan 3 ml. de agua destilada y gotas de ácido sulfúrico al 50% hasta reacción ácida.

Se tapa inmediatamente el tubo de aireación, y la salida del mismo se conecta con uno de los extremos del soporte en el que previamente se intercaló un disco del papel reactivo recientemente preparado. El otro extremo del soporte se conecta con la bomba de agua. Se sumerge el tubo de aireación en un baño de agua calentado a 90° C, cuidando que el nivel de éste, no sea superior al nivel del líquido del tubo, efectuando la succión por la bomba de agua durante 5 minutos.

La experiencia ha demostrado que en ese período de tiempo todo el ácido cianhídrico es extraído y fijado por el papel reactivo.

Se retira el papel reactivo del soporte y se sumerge en solución de ácido clorhídrico al 25%, para disolver el hidróxido de hierro. Luego se lava con agua destilada y se seca con papel de filtro. Una mancha azul en el papel reactivo, indica la presencia de ácido cianhídrico, siendo la intensidad de la coloración proporcional a la cantidad de ácido cianhídrico presente. Para efectuar la valoración, se compara la mancha con una cocala patrón obtenida aplicando el método, a soluciones que contienen cantidades conocidas de ácido cianhídrico.

Para concentraciones de ácido cianhídrico, variables entre 0,2 y 1 microgramo, se emplean soportes con orificio interno de 4 mm, de diámetro y para concentraciones de ácido cianhídrico variables entre 1 y 6 microgramos se utilizan soportes con orificio interno de 10 mm, de diámetro.

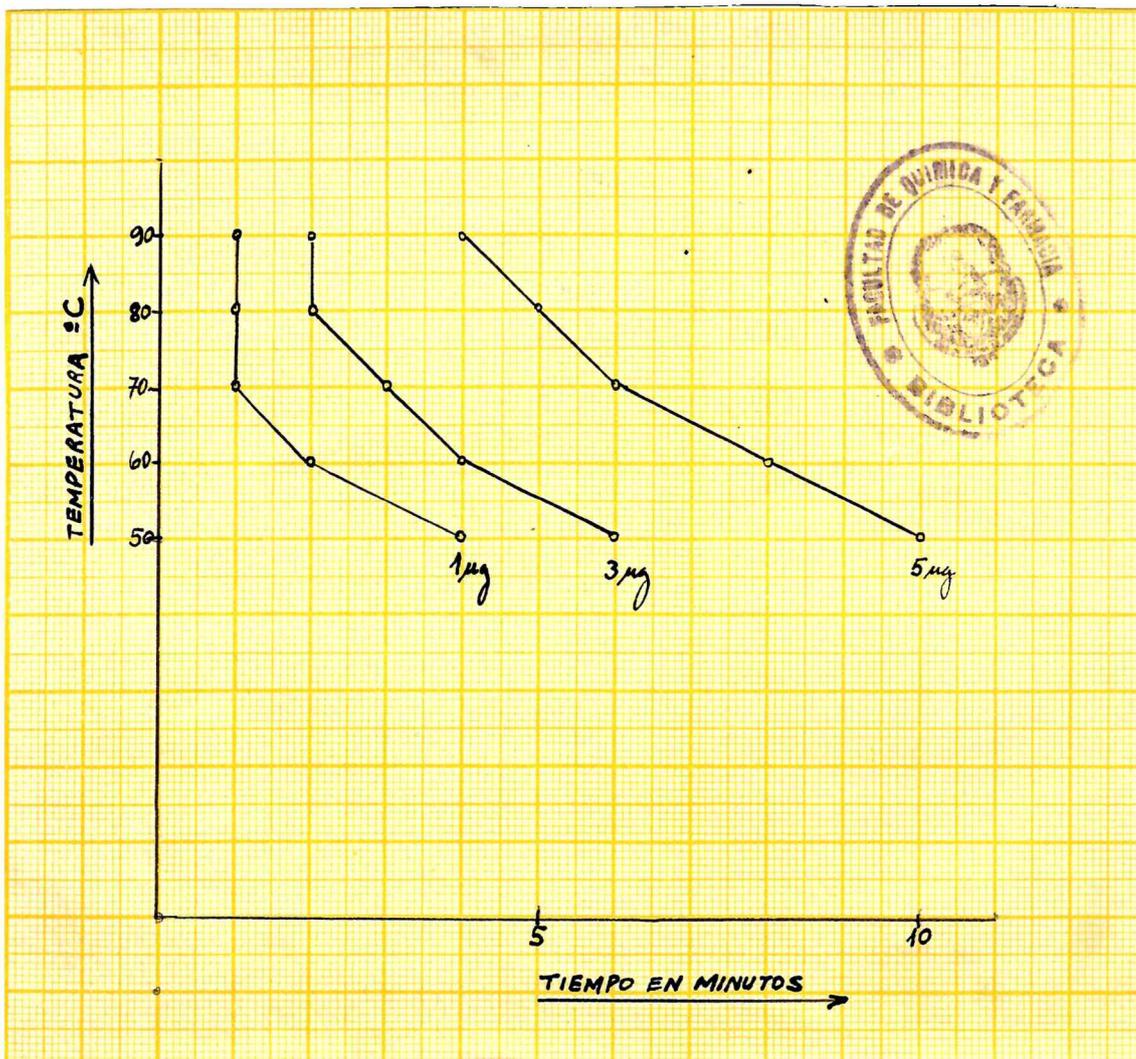
Temperatura	HCN agregado	Tiempo de aireación en minutos										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
90° C	5 μ E	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
90° C	3 μ E	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90° C	1 μ E	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Los resultados obtenidos, ponen de manifiesto que, a medida que aumenta la temperatura disminuye el tiempo de aireación necesario para arrastrar todo el ácido cianhídrico. Así, a 90° C un tiempo de aireación de 4 minutos es suficiente para que concentraciones de hasta 5 μ g de ácido cianhídrico sean arrastradas totalmente por la corriente gaseosa y fijadas por el papel reactivo.

Por encima de 90°C, la succión aplicada puede arrastrar vapor de agua del interior del tubo de aireación impregnando al papel reactivo lo que altera la formación regular de la mancha.

Por lo tanto, conviene establecer como margen de seguridad una temperatura máxima de 90° C con un tiempo de aireación de 5 minutos.

En la gráfica siguiente se resumen los resultados obtenidos.



Con el soporte de orificio interno de 4 mm. y para concentraciones inferiores de 1 μ g el pasaje del ácido cianhídrico es total en menos de 1 minuto para temperaturas de 90° C. La temperatura de 90° C y el tiempo de aireación de 5 minutos se adoptará para los dos soportes en los ensayos definitivos.

2) Condiciones óptimas que deben reunir el papel reactivo.

La técnica de Gettler y Goldbaum indica que el papel reactivo se deja secar al aire luego del tratamiento con hidróxido de sodio,

Ahora bien, en la preparación de la escala de manchas tipo se observó, que, según se empleara papel reactivo ligeramente húmedo o completamente seco, se obtenía distinta intensidad de coloración para una misma concentración de ácido cianhídrico.

Con el objeto de comparar resultados, se realizaron ensayos con papeles reactivos recientemente preparados y ligeramente húmedos (antes de que se sequen totalmente luego del tratamiento con hidróxido de sodio), y papeles reactivos a los cuales se los dejó secar totalmente al aire.

Las observaciones experimentales demuestran que, en general, los mejores resultados se obtienen con papel reactivo ligeramente húmedo. El papel reactivo en estas condiciones es fácilmente flexible y presenta una coloración parda-amarillenta. Las óptimas condiciones para su empleo se logran cuando posee alrededor del 20-25% de humedad, lo cual puede llegar a apreciarse fácilmente con la práctica.

El papel reactivo seco, por lo general, presenta una cierta rigidez y es de color pardo-rojizo.

En las tablas N° 2 y 3 se hallan una serie de comparaciones experimentales cualitativas, obtenidas empleando papel reactivo húmedo y papel reactivo seco.

Los ensayos realizados con diferentes tipos de papel Whatman (N° 1-3-40-50) permitieron adoptar el N° 50 ya que los otros tipos dan manchas difusas o puntadas. Todos los ensayos que se describirán fueron obtenidos con este papel.

TABLA N^o 2.

HCN agregado	Comparación de la intensidad de las manchas	
	Papel húmedo	Papel seco
0,2 μ B.	mayor	menor
0,2 μ B.	igual	igual
0,2 μ B.	mayor	menor
0,2 μ B.	mayor	menor
0,2 μ B.	mayor	menor
0,4 μ B.	mayor	menor
0,4 μ B.	igual	igual
0,4 μ B.	igual	igual
0,4 μ B.	mayor	menor
0,4 μ B.	mayor	menor
0,6 μ B.	igual	igual
0,6 μ B.	igual	igual
0,6 μ B.	mayor	menor
0,6 μ B.	mayor	menor
0,6 μ B.	igual	igual
0,8 μ B.	mayor	menor
0,8 μ B.	mayor	menor
0,8 μ B.	mayor	menor
0,8 μ B.	igual	igual
0,8 μ B.	igual	igual
1,0 μ B.	igual	igual
1,0 μ B.	mayor	menor
1,0 μ B.	mayor	menor
1,0 μ B.	mayor	menor
1,0 μ B.	mayor	menor

Soporte empleado: Para manchas de 4 mm. de diámetro.

Material empleado: 2 gramos de vísceras.

TABLA N.º 3.

HCN agregado	Comparación de la intensidad de las manchas	
	Papel húmedo	Papel seco
2,0 µg.	igual	igual
2,0 µg.	igual	igual
2,0 µg.	mayor	menor
2,0 µg.	igual	igual
2,0 µg.	mayor	menor
4,0 µg.	igual	igual
4,0 µg.	mayor	menor
4,0 µg.	igual	igual
4,0 µg.	igual	igual
4,0 µg.	mayor	menor
6,0 µg.	igual	igual
6,0 µg.	mayor	menor

Soporte empleado: Para manchas de 10 mm. de diámetro.

Material empleado: 2 gramos de vísceras.

3) Reproducibilidad de los resultados obtenidos.

Adoptando las condiciones especificadas anteriormente de temperatura (90° C), tiempo de succión (5 minutos) y preparación del papel reactivo, se procedió a preparar escalas patrones estudiando su reproducibilidad, para los distintos valores.

TABLA N° 4.

HCN agregado 2 g. vísceras	Media aritmética de 5 determinaciones	Error "standard"
0,2 µg.	0,16 µg.	$\approx \pm 0,05$
0,4 µg.	0,36 µg.	$\approx \pm 0,05$
0,6 µg.	0,54 µg.	$\approx \pm 0,05$
0,8 µg.	0,78 µg.	$\pm 0,04$
1,0 µg.	0,96 µg.	$\approx \pm 0,05$
2,0 µg.	1,80 µg.	$\pm 0,40$
4,0 µg.	3,40 µg.	$\approx \pm 0,50$
6,0 µg.	5,60 µg.	$\approx \pm 0,50$

El método da siempre resultados por defecto.

- CAPITULO III -

INVESTIGACION DE ACIDO CIANHIDRICO EN VISCERAS CONSER-
VADAS EN CAMARA FRIA.

Material empleado: Se utilizaron muestras medias de vísceras humanas conservadas en cámara fría a 4° C bajo cera en envases de cartón parafinado.

En todos los casos, las vísceras pertenecían a personas cuya muerte no era posible, de acuerdo a los antecedentes sumariales, atribuir a la ingestión del ácido cianhídrico o de sus compuestos.

Resultados experimentales: Ver tabla N° 5.

TABLA N° 5.

Caso N°	Causa de la muerte	Análisis toxicológico	Cámara fría	
			Tiempo en días	HCN (µg/Kg)
1	Suicidio por in- gestión de HCl	HCl=0,87 g/100 g de estómago	609	---
2	Suicidio por in- gestión de HCl	HCl=9,03 g/Kg de vísceras	287	---
3	Presunto suicidio	Negativo	393	---
4	Accidente ferro- viario	Negativo	455	---
5	Suicidio	As ₂ O ₃ =0,198 g/Kg muestra media de vísceras incluyen- do estómago y con- tenido	526	---
6	Suicidio	Estricnina	215	200
7	Intoxicación accidental	Atropina	185	---
8	Suicidio	Estricnina	193	---
9	Homicidio por ahorcamiento	Negativo	401	500
10	Presunta intoxi- cación	Derivado del áci- do barbitúrico	372	---
11	Presunto suicidio	As ₂ O ₃ =0,002 g/Kg muestra media de vísceras incluyen- do estómago y con- tenido	218	---
12	Homicidio	Estricnina	496	---
13	Muerte natural	Negativo	410	---
14	Muerte sospechosa	Negativo	353	---
15	Suicidio	As ₂ O ₃ =0,017 g/Kg muestra media de vísceras incluyen- do estómago y con- tenido	385	350
16	Presunto homici- dio	Negativo	234	---
17	Intoxicación	Derivado del áci- do barbitúrico	253	---
18	Suicidio	As ₂ O ₃ =0,15 g/Kg muestra media de vísceras incluyen- do estómago y con- tenido	187	---

Caso Nº	Causa de la muerte	Análisis toxicológico	Cámara fría	
			Tiempo en días	HCH (µg/Kg)
19	Muerte sospechosa	As ₂ O ₃ =0,166 g/Kg muestra media de vísceras incluyen do estómago y con tenido	438	150
20	Suicidio	Derivado del áci do barbitúrico	188	---
21	Suicidio	As ₂ O ₃ =1,25 g/Kg muestra media de vísceras incluyen do estómago y con tenido	526	---
22	Muerte sospechosa	As ₂ O ₃ =0,002 g/Kg muestra media de vísceras incluyen do estómago y con tenido	386	---
23	Suicidio	Estricnina	473	---
24	Intoxicación	Derivado del áci do barbitúrico	449	---
25	Suicidio	Talio	493	---
26	Intoxicación	Derivado del áci do barbitúrico	571	100
27	Presunta intoxi cación	Negativo	241	---
28	Intoxicación	Alcaloide deriva do de la morfina	252	---
29	Suicidio	As ₂ O ₃ =1,335 g/Kg muestra media de vísceras incluyen do estómago y con tenido	388	100
30	Suicidio	As ₂ O ₃ =0,1 g/Kg muestra media de vísceras incluyen do estómago y con tenido	363	---
31	Muerte sospechosa	Negativo	459	---
32	Suicidio	Nicotina	394	250
33	Suicidio	Talio	463	---
34	Muerte sospechosa	Negativo	372	100
35	Suicidio	As ₂ O ₃ =0,3 g/Kg muestra media de vísceras incluyen do estómago y con tenido	371	---

Caso Nº	Causa de la muerte	Análisis toxicológico	Cámara fría	
			Tiempo en días	HCN (µg/Kg)
36	Presunto Suicidio	Negativo	391	150
37	Suicidio	Estricnina	451	---
38	Suicidio	Alcaloide derivado de la morfina	460	---
39	Muerte por Accidente	Negativo	398	---
40	Presunta intoxicación	Negativo	369	---
41	Presunto homicidio	Negativo	389	---
42	Muerte natural	Negativo	445	---
43	Suicidio	Derivado del ácido barbitúrico	232	---

- CAPITULO IV -

INVESTIGACION DE ACIDO CIANHIDRICO EN VISCERAS FRESCAS

Material empleado: Se utilizaron los líquidos obtenidos por destilación de muestras medias de vísceras en medio ácido, pertenecientes a personas cuya muerte no era posible, de acuerdo a los antecedentes sumariales, atribuir a la ingestión del ácido cianhídrico, o de sus compuestos.

Para ello se procedió así: a 250 gramos de muestra media de vísceras se les añadió 300 mililitros de agua y solución de ácido tartárico al 15% hasta reacción ácida al tornasol. Se destiló en un aparato de destilación simple, hasta un volumen de 250 mililitros. Luego se redestiló en un aparato rectificador, primero hasta un volumen de 75 mililitros y luego hasta un volumen final de 25 mililitros, trabajándose sobre 2 mililitros de este último destilado.

Resultados experimentales: Ver tabla N° 6.

TABLA N.º 6

Caso N.º	Causa de la muerte	Fecha de la muerte	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Resultado del análisis toxicológico	HCM (µg/Kg)
1	Suicidio	2-4-953	3-4-953	4-4-953	As ₂ O ₃ =1,235 g/Kg de vísceras incluyendo estómago y contenido	--
2	Muerte natural	26-1-954	27-1-954	3-2-954	Nicotina	--
3	Suicidio	7-3-954	7-3-954	9-3-954	As ₂ O ₃ =0,87 g/Kg de vísceras incluyendo estómago y contenido	--
4	Suicidio	13-7-954	13-7-954	14-7-954	Derivado del ácido barbitúrico	50
5	Suicidio por ahorcamiento	22-6-954	22-6-954	25-6-954	Negativo	25
6	Muerte sospechosa	6-7-954	7-7-954	12-7-954	Negativo	15
7	Presunto suicidio	11-5-954	11-5-954	12-5-954	Estricnina	--
8	Presunta intoxicación	11-12-954	11-12-954	13-12-954	Negativo	--
9	Muerte sospechosa	15-12-954	15-12-954	17-12-954	Negativo	--
10	Suicidio	2-10-954	2-10-954	5-10-954	Estricnina	35
11	Suicidio	3-10-954	3-10-954	6-10-954	Derivado del ácido barbitúrico	--
12	Presunto suicidio	26-7-954	26-7-954	27-7-954	Negativo	10
13	Presunta intoxicación	9-7-955	9-7-955	11-7-955	Negativo	--
14	Suicidio	17-7-955	17-7-955	19-7-955	As ₂ O ₃ =0,298 g/Kg de vísceras incluyendo estómago y contenido	--
15	Suicidio	10-7-955	10-7-955	11-7-955	As ₂ O ₃ =0,0004 g/Kg de vísceras incluyendo estómago y contenido	45
16	Muerte sospechosa	28-6-955	28-6-955	30-6-955	Negativo	--
17	Muerte sospechosa	6-5-955	6-5-955	11-5-955	Derivado del ácido barbitúrico	--
18	Presunto infanticidio	2-6-955	2-6-955	6-6-955	Negativo	--
19	Suicidio	29-5-955	29-5-955	30-5-955	Negativo	--
20	Muerte sospechosa	24-5-955	24-5-955	26-5-955	Negativo	--
21	Muerte sospechosa	27-5-955	27-5-955	30-5-955	Negativo	--
22	Muerte sospechosa	29-4-955	29-4-955	2-5-955	Negativo	70
23	Presunto homicidio	21-4-955	22-4-955	24-4-955	Negativo	--
24	Suicidio	19-4-955	19-4-955	20-4-955	Derivado del ácido barbitúrico	90
25	Suicidio por arma de fuego	17-4-955	18-4-955	20-4-955	Negativo	--
26	Homicidio por lesiones	16-4-955	17-4-955	18-4-955	Negativo	--
27	Muerte natural	12-4-955	12-4-955	13-4-955	Negativo	--
28	Muerte sospechosa	9-4-955	9-4-955	11-4-955	Negativo	--

Caso N°	Causa de la muerte	Fecha de la muerte	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Resultado del análisis toxicológico	HCH (µg/Kg)
29	Suicidio	18-7-955	19-7-955	20-7-955	Derivado del ácido barbitúrico	80
30	Muerte sospechosa	27-7-955	30-7-955	1-8-955	Negativo	15
31	Ingestión de hidróxido de potasio (muerte a los 61 días)	30-7-955	30-7-955	1-8-955	Negativo	20
32	Muerte sospechosa	23-8-955	24-8-955	26-8-955	Negativo	100
33	Suicidio	22-8-955	23-8-955	29-8-955	Derivado del ácido barbitúrico	10
34	Suicidio	6-9-955	7-9-955	8-9-955	Derivado del ácido barbitúrico	180
35	Presunta muerte natural	2-9-955	5-9-955	8-9-955	Negativo	150
36	Presunto homicidio	20-9-955	21-9-955	26-9-955	Negativo	--
37	Tuberculosis pulmonar	29-9-955	30-9-955	30-9-955	Negativo	--
38	Accidente ferroviario	11-10-955	11-10-955	13-10-955	Negativo	--
39	Suicidio	14-10-955	15-10-955	17-10-955	Negativo	--
40	Aborto	16-10-955	16-10-955	17-10-955	Negativo	60
41	Accidente ferroviario	14-10-955	14-10-955	20-10-955	Negativo	25
42	Suicidio	29-11-955	30-11-955	5-12-955	CS ₂ 0,0076 g/Kg de vísceras incluyendo estómago y contenido	15
43	Suicidio por ingestión de ácido nítrico	11-11-955	12-11-955	15-11-955	Negativo	10
44	Presunta intoxicación	21-11-955	23-11-955	1-12-955	Negativo	20
45	Muerte por asfixia	10-11-955	10-11-955	11-11-955	Negativo	10
46	Homicidio por aborto	24-10-955	24-10-955	25-10-955	quinina	35

- CAPITULO V -

INVESTIGACION DE ACIDO CIANHIDRICO EN MUESTRAS DE SANGRE HUMANA RECIENTEMENTE OBTENIDAS.

Material empleado: Se utilizaron muestras de sangre humana obtenidas por punción venosa, sin agregado de anticoagulantes ni de ninguna otra sustancia extraña, aplicando la técnica sobre 10 mililitros de sangre a los cuales se les añadió 5 mililitros de solución de ácido tricloroacético al 20%.

Resultados experimentales: Ver tabla N° 7.

TABLA N°7

Muestra N°	HCH (μ g/litro)	Muestra N°	HCH (μ g/litro)
1	30	20	--
2	--	21	50
3	80	22	--
4	--	23	--
5	30	24	--
6	20	25	20
7	30	26	20
8	--	27	--
9	--	28	70
10	--	29	40
11	--	30	--
12	--	31	--
13	20	32	50
14	--	33	--
15	30	34	--
16	--	35	--
17	20	36	--
18	--	37	--
19	--	38	20

- CAPITULO VI -

DISCUSION E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Resultados obtenidos.

1) La aplicación del micrométodo en la investigación de ácido cianhídrico en vísceras humanas conservadas en cámara fría, pertenecientes a personas cuya muerte no era posible, de acuerdo a los antecedentes sumariales, atribuir a la ingestión del ácido cianhídrico o sus compuestos, ha permitido hallar ácido cianhídrico en 10 casos sobre 43 estudiados. Ello representa un 23,25% del total de casos estudiados con concentraciones variables entre 100 y 500 μ g. por Kg. de vísceras.

Se halló HCN en:

- 3 casos de suicidio por ingestión de anhídrido arsenioso.
- 2 casos de suicidio por ingestión de estricnina.
- 1 caso de suicidio por ingestión de nicotina.
- 1 caso de intoxicación con barbitúricos.
- 1 caso de muerte sospechosa.
- 1 caso de presunto suicidio.
- 1 caso de homicidio por ahorcamiento.

2) La aplicación del micrométodo en la investigación de ácido cianhídrico en los líquidos obtenidos por destilación de vísceras frescas en medio ácido, pertenecientes a personas muertas en las condiciones especificadas en el punto anterior, ha permitido hallar ácido cianhídrico en 22 casos sobre 46 estudiados. Ello representa un 47,82% del total de casos estudiados con concentraciones que varían entre 10 y 180 μ g. por Kg. de vísceras.

Se halló HCN en:

- 5 casos de suicidio por ingestión de barbitúricos.
- 1 caso de suicidio por ingestión de anhídrido arsenioso.
- 1 caso de suicidio por ingestión de estricnina.
- 1 caso de suicidio por ingestión de potasa cáustica.
- 1 caso de suicidio por ingestión de ácido nítrico.
- 1 caso de suicidio por ingestión de sulfuro de carbono.
- 1 caso de suicidio por ahorcamiento.

- 1 caso de presunto suicidio.
- 1 caso de homicidio por aborto con quinina.
- 5 casos de muerte sospechosa.
- 1 caso de presunta intoxicación.
- 1 caso de muerte por accidente ferroviario.
- 1 caso de muerte por asfixia.
- 1 caso de presunta muerte natural.

3) La aplicación del micrométodo en la investigación de ácido cianhídrico en muestras de sangre humana recientemente obtenidas, ha permitido hallar ácido cianhídrico en 15 muestras sobre 38 estudiadas. Ello representa un 39,47% del total de muestras estudiadas con concentraciones que varían entre 20 y 80 μ g. por litro de sangre.

Discusión e interpretación.

Los resultados obtenidos experimentalmente permiten afirmar que el hallazgo de concentraciones de ácido cianhídrico variables entre 10 y 180 μ g. por Kg. de vísceras frescas, y de concentraciones de 100 a 500 μ g. de ácido cianhídrico por Kg. de vísceras conservadas en cámara fría es un hecho que puede ser considerado como "normal".

La estadística demuestra que esos hallazgos se cumplen aproximadamente en una víscera de cada cuatro analizadas.

Entre las causas a que se puede atribuir una aparición inesperada de ácido cianhídrico en vísceras frescas se cita la ingestión de glucósidos cianogenéticos. Pero es difícil aceptar que la elevada proporción de casos en que aparece el ácido cianhídrico, sea atribuible solamente a dicho mecanismo productor; por ello, cabe pensar en otro mecanismo, lo que se encuentra confirmado por el hallazgo de ácido cianhídrico en sangre por diversos autores (7), (8), (9), como así también en el presente trabajo.

Es posible que jueguen un papel importante en la producción de este ácido cianhídrico, las enzimas. Por ejemplo Goldstein y Rieders (10), hallaron una en los glóbulos rojos del hombre,

perro, conejo y rata, que oxida los sulfocianuros a cianuro. A esta enzima se la denominó tiocianato oxidasa.

Pines y Crymble (11), observaron que la transformación del sulfocianuro en cianuro, in vitro, ocurre rápidamente en presencia de un constituyente del glóbulo rojo, posiblemente una enzima.

La integridad de los glóbulos rojos no es esencial para la transformación, ya que la misma se realiza también con sangre homolizada, pero el sistema es termolábil lo cual es compatible con el concepto de que la reacción es enzimática. También constataron la presencia de ácido cianhídrico, en la sangre de pacientes hipertensos a los cuales se les administró dosis terapéuticas de sulfocianuro de potasio.

El trabajo de estos investigadores, constituye un firme apoyo a la hipótesis de producción del ácido cianhídrico por acción enzimática.

El ácido cianhídrico también se puede producir durante la putrefacción de las vísceras, lo cual fué constatado por Gettler y Baine (5) y por Truffert (6), sin que el mecanismo íntimo haya sido aclarado. Es posible que independientemente de los mecanismos enzimáticos propios de los tejidos, intervenga la flora microbiana de la putrefacción, como se ha demostrado experimentalmente con la *Pseudomonas aeruginosa* (bacilo picocianico) (12).

De acuerdo a los valores hallados no será posible afirmar una hipótesis de intoxicación cianhídrica, cuando ellos sean inferiores a 500 μ g. por Kg. de vísceras, salvo que las constancias sumariales corroboren la ingestión de dicho tóxico. En este último caso podrá pensarse que las ínfimas concentraciones halladas son el remanente del ácido cianhídrico ingerido.

CONCLUSIONES

1)- Es factible la comprobación de pequeñas cantidades de ácido cianhídrico en vísceras de personas que murieron por causas ajenas a la ingestión de dicho tóxico o sus compuestos.

2)- Hasta el momento actual, ~~por~~ estadísticas revelan que concentraciones de ácido cianhídrico inferiores a 500 μ g. por Kg. de vísceras, no pueden tener por sí solas un valor toxicológico demostrativo de una intoxicación cianhídrica.

Amelio F. Paggi



- CAPITULO VII -

BIBLIOGRAFIA

- (1) Kohn-Abrest E.- Précis de Toxicologie; 2da. Ed. 1948, pág. 74.
- (2) Douris R.- Toxicologie Moderne; 2da. Ed. 1951, pág. 151.
- (3) Kohn-Abrest E.- Précis de Toxicologie; 2da. Ed. 1948, pág.85.
- (4) Gattler A. O.-Goldbaum L.- Analytical Chemistry; Vol. 19, N^o 4, Abril 1947.
- (5) Gattler A. O.- Baine J. O.- American Journal of the Medical Sciences; 195, 182-198, (1938).
- (6) Truffert L.- Paris médicale; 121, 265-267, (1941).
- (7) Boxer G. E.- Rickards J. C.- Archives of Biochemistry and Biophysics; 30, 392, (1951).
- (8) Fowler R. C.- Durbetacki A. J.- American Journal of Physiology; 171, 724, (1952).
- (9) Fedstein H.- Klendshoj N. C.- The journal of laboratory and clinical medicine; Vol. 44, N^o 1, pág. 166, Julio 1954.
- (10) Goldstein F.- Rieders Y.- American Journal of Physiology; 167, 47, (1951).
- (11) Pines K. L.- Crymble M. M.- Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine ; 81, 160-163, (1952).
- (12) Quiroga S. S.- Monteverde J. J.- Revista sud-americana de endocrinología-inmunología quimioterapia; año XXIII, N^o 9, pág. 565 y sig.; año XXIII, N^o 10, pág. 618 y sig.