

Ana Raquel de Pinho Sousa Quental

Análise toxicológica da cocaína e dos seus metabolitos em contexto forense

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Ana Raquel de Pinho Sousa Quental

Análise toxicológica da cocaína e dos seus metabolitos em contexto forense

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Ana Raquel de Pinho Sousa Quental

Análise toxicológica da cocaína e dos seus metabolitos em contexto forense

Atesto a originalidade do trabalho:

Trabalho apresentado à Universidade Fernando
Pessoa como parte dos requisitos para obtenção
do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

Apesar do declínio no consumo de cocaína observado nas últimas décadas, esta continua a ser uma das drogas ilícitas mais consumidas no mundo. A cocaína possui múltiplas ações centrais e periféricas, sendo um potente estimulante do sistema nervoso central e também um anestésico local com propriedades vasoconstritoras. O seu consumo está frequentemente associado a um aumento da frequência cardíaca, da pressão arterial e da temperatura corporal. Em casos de overdose, estas alterações podem ser acompanhadas por convulsões e, eventualmente, morte por paragem cardiorrespiratória. O consumo continuado desta droga está associado ao aparecimento de complicações, sendo mais frequentes as cardíacas (enfarte agudo do miocárdio, arritmias), pulmonares, neurológicas e psiquiátricas (manifestações psicóticas). Deste modo, a determinação da cocaína e dos seus metabolitos em amostras biológicas assume grande interesse em Toxicologia Clínica e Forense. No âmbito da Toxicologia Forense, a cocaína encontra-se envolvida em questões do âmbito judicial, podendo ser a causa de morte do indivíduo (por exemplo, em situações de overdose) ou ter contribuído para tal. Está igualmente envolvida na alteração da performance humana (por exemplo, efeitos na condução rodoviária) e em situações de rastreio de drogas ilícitas (por exemplo, requisito para desempenhar determinadas atividades profissionais).

Este trabalho surge com o intuito de enfatizar a importância da cocaína em contexto forense. Para o desenvolvimento do trabalho, foi realizada primeiramente uma revisão da literatura sobre as características principais da cocaína, incluindo a prevalência do seu consumo, formas de administração, aspetos farmacocinéticos e farmacodinâmicos, efeitos fisiológicos e toxicidade aguda e a longo prazo. Posteriormente, são referidos vários aspetos relevantes em contexto forense, nomeadamente a redistribuição *post-mortem* desta droga, as matrizes biológicas tradicionais e alternativas usadas na sua deteção, os procedimentos de colheita e preservação dessas amostras, as metodologias empregues na análise toxicológica e as potenciais áreas de aplicação dessas análises.

ABSTRACT

Despite the decline in cocaine's consumption observed in recent decades, it continues to be one of the most used psychomotor stimulants all over the world. Cocaine has multiple central and peripheral actions, so it is a potent stimulant of the central nervous system and also a local anesthetic with vasoconstrictor properties. Its consumption is often associated with an increase in heart rate, blood pressure and body temperature. In cases of overdose, these changes may be accompanied by convulsions and eventually death from cardiac arrest. The continued consumption of this drug is associated with the onset of complications, more frequent cardiac (myocardial infarction, arrhythmia), pulmonary, neurological and psychiatric (psychotic symptoms). Thus, the determination of cocaine and its metabolites in biological samples is of great interest in Forensic and Clinical Toxicology. In the framework of Forensic Toxicology, cocaine is involved in legal issues, because it can be the cause of death of the individual (for example, overdose situations) or have contributed to such. It is also involved in the change of human performance (for example, impacts on road driving) and in illicit drug screening situations (for example, requirement to perform certain professional activities).

This work arises in order to emphasize the importance of cocaine in forensic context. To develop the work, a literature review was first performed on the main characteristics of cocaine, including the prevalence of consumption, forms of administration, pharmacokinetic and pharmacodynamics aspects, physiological effects and acute and long-term toxicity. Subsequently, several relevant aspects are referred in forensic context, namely post-mortem redistribution of this drug, traditional and alternative biological matrices used in its detection, harvest procedures and preservation of samples, the methodologies employed in toxicological analysis and potential application areas of these analyzes.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por me demonstrarem
diariamente que é possível.

AGRADECIMENTOS

No final de mais uma etapa na minha vida não podia deixar de agradecer a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o meu sucesso.

Começo por agradecer à minha orientadora, Prof. Doutora Márcia Cláudia Dias de Carvalho, por toda a paciência, disponibilidade, compreensão, incentivo, apoio e sabedoria que me transmitiu ao longo de todo o meu percurso académico.

Aos meus colegas e amigos, agradeço por toda a dedicação, apoio e paciência.

E, por último, também aos meus pais, irmãos e avós agradeço com especial carinho pela força e apoio incansável e incondicional que me deram ao longo de todos estes anos.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
DEDICATÓRIA.....	vii
AGRADECIMENTOS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. MATERIAIS E MÉTODOS	2
III. COCAÍNA: UMA DROGA CLÁSSICA.....	2
3.1. Perspetiva histórica	2
3.2. Prevalência e Padrão de consumo.....	4
3.3. Toxicocinética da cocaína.....	6
3.3.1. Absorção e distribuição	6
3.3.2. Concentração terapêutica, tóxica e letal	8
3.3.3. Metabolismo	8
3.3.4. Excreção	11
3.4. Farmacodinâmica: mecanismo de ação e efeitos farmacológicos	11
3.4.1. Ação anestésica.....	11
3.4.2. Ação a nível do sistema nervoso central	13
3.5. Toxicidade da cocaína	15
3.5.1. Hipertermia.....	15
3.5.2. Ação a nível do sistema cardiovascular.....	15
3.5.3. Ação a nível do sistema respiratório	16
3.5.4. Ação a nível do sistema hepático	17

3.5.5.	Ação a nível do sistema renal	18
3.5.6.	Abuso e dependência	19
3.5.7.	Efeitos na gravidez	20
3.5.8.	Síndrome do delírio agitado	22
3.5.9.	Síndrome do <i>body packer</i>	22
3.5.10.	Outros	23
3.6.	Sinais e sintomas das intoxicações agudas	23
3.7.	Tratamento das intoxicações agudas.....	24
IV.	COCAÍNA EM TOXICOLOGIA FORENSE	26
4.1.	Áreas de aplicação da Toxicologia Forense	26
4.1.1.	Toxicologia <i>post-mortem</i>	26
4.1.2.	Toxicologia comportamental.....	27
4.1.3.	Controlo de drogas de abuso	29
4.2.	Investigação toxicológica.....	29
4.2.1.	Importância da cadeia de custódia.....	30
4.2.2.	Recolha, conservação e estabilidade de amostras para análise toxicológica.....	30
4.2.3.	Aspetos pré-analíticos na análise toxicológica <i>post-mortem</i>	31
4.2.3.1.	Redistribuição <i>post-mortem</i>	32
4.2.3.2.	Estabilidade química e metabólica.....	34
4.2.4.	Amostras biológicas	34
4.2.4.1.	Amostras habituais	35
4.2.4.1.1.	Sangue	35
4.2.4.1.2.	Cérebro	35
4.2.4.1.3.	Urina.....	36
4.2.4.1.4.	Bílis.....	36
4.2.4.1.5.	Conteúdo gástrico.....	37

4.2.4.1.6. Humor vítreo	37
4.2.4.2. Amostras alternativas	38
4.2.4.2.1. Tecidos Queratinizados	38
4.2.4.2.2. Saliva	39
4.2.4.2.3. Suor.....	40
4.2.5. Métodos de análise de cocaína em amostras biológicas.....	40
4.2.5.1. Métodos diretos de análise	41
4.2.5.2. Técnicas de confirmação	42
4.2.5.2.1. Preparação da amostra.....	42
4.2.5.2.2. Cromatografia em camada fina (TLC)	43
4.2.5.2.3. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS).....	43
4.2.5.2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espetrometria de massa (HPLC-MS).....	44
4.2.5.3. Valores de <i>cut-off</i>	46
4.2.6. Interpretação de análises.....	46
V. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS	52
VI. BIBLIOGRAFIA.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do alcalóide cocaína (à esquerda) e folhas da planta <i>Erythroxylum coca</i> (à direita) (Fonte: Restrepo <i>et al.</i> , 2007).....	2
Figura 2: Prevalência do consumo de drogas estimulantes, em 2013, entre jovens adultos (15-34 anos) (Fonte: OEDT, 2014).	4
Figura 3: Representação esquemática da prevalência do consumo de cocaína, em 2013, entre jovens adultos (15-34 anos): tendências selecionadas (à esquerda) e dados mais recentes (à direita) (Fonte: OEDT, 2014).....	6
Figura 4: Variação da intensidade e início da ação da cocaína com a via de administração (adaptado de Freye, 2009).	7
Figura 5: Metabolismo da cocaína (adaptado de Jenkins, 2008).	9
Figura 6: Metabolismo da cocaína, evidenciando a via oxidativa (adaptado de Kovacic, 2005).....	10
Figura 7: Interação dos anestésicos locais com os canais de sódio. Os compostos anestésicos podem atingir o local de bloqueio na superfície interior da membrana do axónio por espécies carregadas, BH ⁺ (via hidrofílica), ou diretamente a partir da membrana por espécies neutras, B (via hidrofóbica) (adaptado de Range <i>et al.</i> , 2007). 12	
Figura 8: Ação da cocaína nos transportadores e recetores da dopamina localizados na membrana dos terminais dopaminérgicos (pré-sináptico) e pós-sinápticos, respetivamente (adaptado de Volkow, 2010).	13
Figura 9: Mecanismo de hepatotoxicidade (adaptado de Valente <i>et al.</i> , 2012). ATP: Adenosina Trifosfato; CPR: NADPH Citocromo P450 Redutase; CYP450: Citocromo P450; FADM: Monooxigenase dependente do Dinucleótido Flavina-Adenina; GSH: Glutationa reduzida; NCOC: Norcocaína; NCOC-NO [·] : Nitróxido de Norcocaína; NCOC-NO ⁺ : Norcocaína Nitrosonium; N-OH-NCOC: N-Hidroxinorcocaína; ROS: Espécies Reativas de Oxigénio.....	18
Figura 10: Representação esquemática do tempo de deteção da maioria das drogas nas principais matrizes (Fonte: Bulcão <i>et al.</i> , 2012).....	38

Figura 11: Sequência de procedimentos adotados numa pesquisa toxicológica (adaptado de Rangel, 2003)..... 40

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações plasmáticas da cocaína e dos seus metabolitos (adaptado de OCME, 2013).	8
Tabela 2: Resumo dos principais sintomas e efeitos tóxicos resultantes do uso de cocaína (adaptado de Mantovani <i>et al.</i> , 2015).	19
Tabela 3: Resumo dos principais efeitos adversos durante o período gestacional e neonatal associados ao consumo de cocaína (adaptado de Freye, 2009).	21
Tabela 4: Opções terapêuticas no tratamento da intoxicação aguda por cocaína (adaptado de Freye, 2009).	25
Tabela 5: Quadro 1 do Anexo V da Portaria 902-B/2007 e respetivos valores de <i>cut-off</i> para exame de rastreio na urina (adaptado de SICAD, 2007).	28
Tabela 6: Mecanismos de redistribuição <i>post-mortem</i> (adaptado de Pélissier-Alicot <i>et al.</i> , 2003).	34
Tabela 7: Métodos de deteção empregues na análise de cocaína em diversas matrizes biológicas (adaptado de Barroso <i>et al.</i> , 2009).	45
Tabela 8: Valores de <i>cut-off</i> estabelecidos para a cocaína nas várias matrizes biológicas (adaptado de SAMHSA, 2004).	46
Tabela 9: Resultados obtidos nas análises à urina e ao cabelo (adaptado de Polla <i>et al.</i> , 2009).	50

LISTA DE ABREVIATURAS

a.C. – antes de Cristo

AEME – Éster metílico de anidroecgonina

ATP – Adenosina Trifosfato

BZE – Benzoilecgonina

COC – Cocaína

COET – Cocaetileno

EEE – Éster Etilico de Ecgonina

EIA – Ensaio imunoenzimático (do inglês, *Enzyme Immunoassay*)

EME – Éster metílico de ecgonina

EUA – Estados Unidos da América

FPIA – Imunoensaio de fluorescência polarizada (do inglês, *Fluorescence Polarization Immunoassay*)

GC – Cromatografia gasosa (do inglês, *Gas Chromatography*)

H₂O₂ – Peróxido de Hidrogénio

HPLC – Cromatografia líquida de alta resolução (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

IN – Via Intranasal

IV – Via intravenosa

MS – Espetrometria de massa (do inglês, *Mass Spectrometry*)

NADPH – Dinucleótido de Adenina Nicotinamida Fosfato Reduzido

NCOC – Norcocaína

O₂⁻ – Anião Superóxido

OCME – *Office of the Chief Medical Examiner*

OEDT – Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência

PGDL – Procuradoria-Geral Distrital de Lisboa

RIA – Radioimunoensaio (do inglês, *Radioimmunoassay*)

SAMHSA – *Substance Abuse and Mental Health Service Administration*

SICAD – Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências

SPE – Extração de fase sólida (do inglês, *Solid Phase Extraction*)

SPME – Microextração de fase sólida (do inglês, *Solid Phase Microextraction*)

THC – Δ^9 -Tetrahydrocannabinol

TLC – Cromatografia em camada fina (do inglês, *Thin Layer Chromatography*)

UNODC – *United Nations Office on Drugs and Crime*

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

I. INTRODUÇÃO

A cocaína é uma das drogas ilícitas mais consumidas em todo o mundo. O seu consumo regular e crónico relaciona-se com problemas cardiovasculares, neurológicos e psiquiátricos, como o risco de dependência (Jones e Holmgren, 2013). Segundo o último relatório do Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência (OEDT), os estimulantes mais consumidos na Europa são a cocaína, a *ecstasy* e as anfetaminas, apresentando um elevado nível de consumo associado, não só a grupos marginalizados e problemáticos, mas também a consumidores recreativos e experimentais, socialmente bem integrados, em contextos específicos de dança, música e espaços recreativos noturnos (OEDT, 2014). O consumo concomitante de cocaína e outras substâncias, como a heroína e o álcool, é uma realidade bem conhecida e especialmente perigosa, sendo, muitas vezes, responsável por hospitalizações e mortes por overdose (Andrada *et al.*, 2012).

O consumo de drogas ilícitas é um problema grave de saúde pública e de grande impacto na sociedade moderna. Neste sentido, o recurso a métodos analíticos sensíveis e fidedignos para deteção e quantificação de cocaína e dos seus metabolitos nas amostras biológicas revela grande interesse nas áreas da Toxicologia Clínica e Forense (Barroso *et al.*, 2009). Apesar dos aspetos relacionados com a toxicocinética da cocaína serem atualmente sobejamente conhecidos, outros mais específicos relacionados com a área forense, como a distribuição da cocaína em amostras alternativas, continuam a ser estudados (Bortolotti *et al.*, 2012).

Este trabalho teve por objetivo realizar uma revisão da literatura científica sobre a cocaína, de modo a auxiliar a interpretação de dados em contexto forense, procedendo à análise das propriedades farmacocinéticas da cocaína, dos fatores que afetam a sua concentração *post-mortem* e subsequente interpretação, da sua estabilidade química e enzimática, da utilidade das várias matrizes biológicas e dos métodos analíticos empregues. Com base na informação recolhida, procurou-se responder a algumas questões com relevância neste âmbito: 1. Qual a importância do local de colheita da amostra em relação às concentrações *post-mortem* da cocaína? 2. A que se deve a diferença de concentrações *ante-* e *post-mortem* da cocaína? 3. Qual a relevância do procedimento de preservação das matrizes biológicas?

II. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi efetuada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados *PubMed* e *b-on*, utilizando as seguintes palavras-chave *cocaine*, *forensic* e *toxicology*, com as quais foram obtidos 446 artigos. Dos artigos inicialmente encontrados foram selecionados 175 disponíveis em texto integral por serem os mais relacionados com o tema desta revisão bibliográfica. Foi ainda recolhida informação em 24 livros didáticos e 3 *websites* governamentais, usando o motor de busca *Google*. Esta pesquisa foi contínua ao longo do desenvolvimento deste trabalho, tendo-se realizado desde setembro de 2014 a Julho de 2015.

III. COCAÍNA: UMA DROGA CLÁSSICA

3.1. Perspetiva histórica

A planta *Erythroxylum coca*, originária dos Andes, produz cerca de 14 alcalóides diferentes. Destes, o principal é a cocaína, representando 20 a 90% do conteúdo total de alcalóides presentes nas folhas desta planta (figura 1). A produção destas substâncias encontra-se associada a uma forma de defesa da própria planta contra insetos e herbívoros (Freye, 2009).

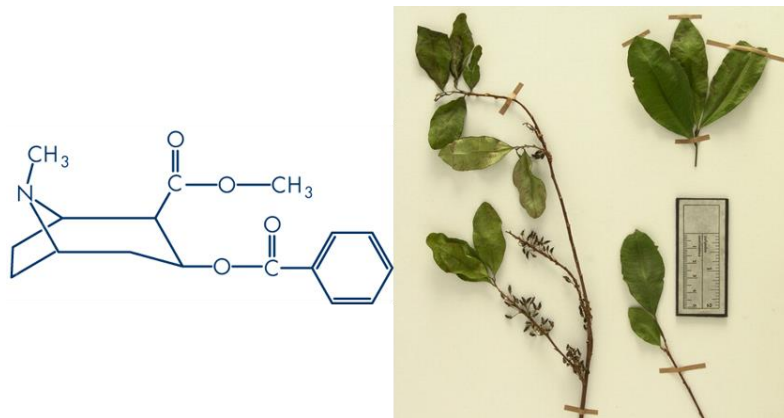


Figura 1: Estrutura química do alcalóide cocaína (à esquerda) e folhas da planta *Erythroxylum coca* (à direita) (Fonte: Restrepo *et al.*, 2007).

A cocaína é considerada uma droga psicotrópica, caracterizada pelo seu efeito simpaticomimético (Dinis-Oliveira *et al.*, 2012; Pilgrim *et al.*, 2013). É um dos estimulantes naturais mais antigos que se conhece, sendo que existem relatos de utilização da planta que remontam há milhares de anos. A descoberta de múmias envolvidas em

folhas de *coca*, no Equador e Peru, permitiu concluir que o cultivo desta planta já era feito há 3000 anos a.C. Apesar de serem muitas as tribos que usavam a referida planta para várias ocasiões, a sua origem encontra-se associada ao estado Inca, uma vez que este deu um significado religioso ao consumo das folhas, para além de ter controlado o seu cultivo e distribuição pelas classes mais altas e pelos trabalhadores, de modo a diminuir o cansaço e aumentar a resistência física (Freye, 2009).

Também os índios sul-americanos costumavam mascar as folhas de *coca* com a finalidade de atenuar os efeitos das altitudes elevadas, para combater a fome e aumentar a resistência muscular (White e Lambe, 2003; Karch, 2006).

Ao longo do tempo, têm sido relatados diversos usos da planta de *coca*, desde substituto da comida, estimulante, tratamento de doenças e alívio da dor, até à sua utilização para manter a temperatura corporal (Karch, 2006).

No entanto, o interesse por esta planta só surgiu na Europa após o sucesso da famosa bebida *Vin Mariani*, uma mistura de vinho com um extrato não purificado de folhas de *coca* criada em 1863 pelo empresário e químico Angelo Mariani (Karch, 1999; Freye, 2009). Mais tarde, o farmacêutico John Styth Pemberton, baseando-se na fórmula da *Vin Mariani*, produziu o *French Wine Coca*, que viria a tornar-se a receita original da Coca-Cola® após a substituição do vinho por um xarope à base de açúcar e extratos de frutos, contendo também folhas de *coca*. Porém, a popularidade da cocaína levou a alguns abusos e, assim, foram criadas algumas leis estatais de modo a controlar a sua distribuição. Por conseguinte, em 1904, a companhia Coca-Cola® viu-se obrigada a retirar a cocaína dos seus produtos (Andrews e Solomon, 1975).

A cocaína foi também introduzida na medicina, tendo sido utilizada com diversas finalidades terapêuticas, tais como no alívio de dores, tratamento de hemorragias, relaxante muscular, tratamento da dependência de morfina e álcool, e tratamento de algumas doenças respiratórias (asma e tosse) (Andrews e Solomon, 1975). A sua introdução na clínica deve-se a Carl Koller que, em 1884, descobriu que a cocaína era um vasoconstritor e anestésico local, usando-a pela primeira vez numa cirurgia oftálmica. Apesar do seu valor medicinal, a cocaína possui um alto potencial de dependência, levando ao seu consumo abusivo. Assim, o seu uso clínico é hoje bastante limitado, sendo

utilizada como anestésico local para pequenas cirurgias no nariz, ouvido e garganta e em procedimentos oftálmicos (Isenschmid, 2010).

3.2. Prevalência e Padrão de consumo

Atualmente, o uso de drogas ilícitas continua a ter uma importância considerável pois é frequentemente a razão para a perda de vidas humanas. O Relatório Mundial sobre Drogas estima que, no ano de 2012, cerca de 243 milhões da população mundial (correspondente a 5,2 %) tenha consumido drogas ilícitas pelo menos uma vez no ano anterior (UNODC, 2014).

Na Europa, são notificadas anualmente cerca de 1 milhão de apreensões de drogas ilícitas, sendo que mais de 80% são de *cannabis*, o que faz com que esta tenha a maior prevalência de consumo europeu (73,8 milhões de adultos). A cocaína encontra-se em segundo lugar, apresentando um consumo de 14,1 milhões, seguindo-se as anfetaminas, com 11,4 milhões, e a *ecstasy* com 10,6 milhões. Estas prevalências de consumo variam geograficamente, sendo a cocaína a droga estimulante ilícita mais consumida na Europa meridional e ocidental (figura 2) (OEDT, 2014). Em Portugal, a cocaína é a terceira droga mais consumida pela população portuguesa (com idade entre 15 e 64 anos). De acordo com o Relatório Anual sobre a Situação do País em Matéria de Drogas e Toxicodependência, estima-se que, no ano de 2013, a cocaína tenha sido a segunda droga eleita pelos portugueses responsável por tratamentos de toxicodependência e mortes por overdose (SICAD, 2014).

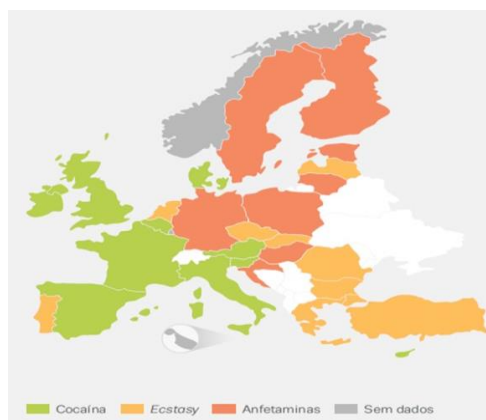


Figura 2: Prevalência do consumo de drogas estimulantes, em 2013, entre jovens adultos (15-34 anos) (Fonte: OEDT, 2014).

A produção da cocaína é feita exclusivamente na Bolívia, Colômbia e Peru, sendo que o tráfico para a Europa realiza-se por via aérea e marítima. Em 2012, segundo o relatório do OEDT, foram efetuadas 77.000 apreensões de cocaína que corresponderam a 71 toneladas de droga confiscadas (OEDT, 2014).

A cocaína apresenta-se essencialmente sob a forma de pó (cloridrato de cocaína) ou na forma de base livre (*crack*). Estas formas apresentam vias de administração diferentes, sendo que o sal pode ser administrado por via intravenosa (via IV) ou intranasal enquanto o *crack* é fumado, o que resulta em efeitos com duração e intensidade distintas. A escolha da forma de consumo varia consoante o tipo de consumidor e até mesmo com o próprio local de administração (Freye, 2009; OEDT, 2014).

Os estudos realizados demonstraram que consumidores socialmente bem integrados optam mais frequentemente pela forma de cocaína em pó, administrando-a por via intranasal (snifada), enquanto os consumidores mais marginalizados preferem a forma de *crack*, sendo esta habitualmente fumada (Prinzleve *et al.*, 2004). Este último grupo é o mais problemático, uma vez que demonstrou possuir um padrão de consumo de maior intensidade bem como a associação desta droga a muitas outras, principalmente álcool e heroína (Gossop *et al.*, 2006).

O problema associado ao uso de drogas ilícitas, e que mais preocupa os especialistas, é o impacto na saúde. Este encontra-se diretamente associado a mortes por overdose, e indiretamente a mortes resultantes de complicações como atos de violência, suicídios e doenças associadas (principalmente as de carácter infeccioso). Neste contexto, segundo o Relatório Mundial sobre Drogas, em 2012, cerca de 183.000 mortes foram relacionadas com o uso de drogas, o que corresponde a um valor de taxa de mortalidade de 40 mortes por milhão de habitantes com idades compreendidas entre os 15 e 64 anos. No entanto, também as doenças infecciosas associadas principalmente ao consumo de drogas injetáveis preocupam os profissionais de saúde. Ainda de acordo com o mesmo relatório, estima-se que, também no ano de 2012, cerca de 1,7 milhões dos indivíduos que usam drogas por via injetável encontram-se infetados com o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) (UNODC, 2014).

Apesar deste cenário, a prevalência de consumo da cocaína encontra-se em declínio, verificando-se uma diminuição acentuada do seu consumo em países como Espanha,

para se alcançar o pico plasmático, 300-400 ng/ml por via injetável e 300-800 ng/ml por via inalatória (Romano *et al.*, 2002; Freye, 2009).

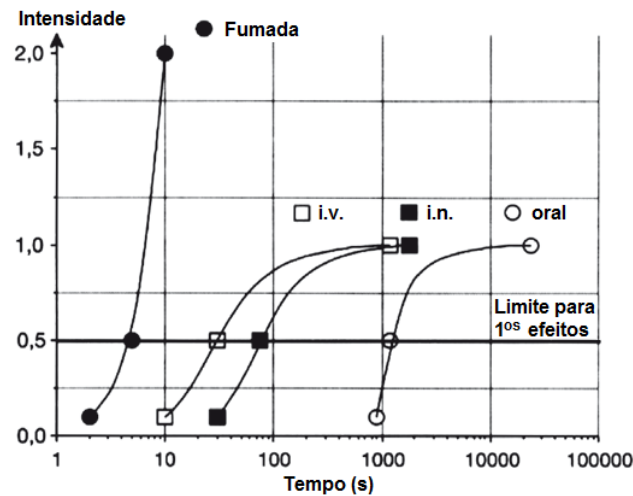


Figura 4: Variação da intensidade e início da ação da cocaína com a via de administração (adaptado de Freye, 2009).

A via intranasal (snifada) é descrita como sendo a terceira via com um início de ação mais rápido, entre 3 a 5 minutos, obtendo-se uma biodisponibilidade de 25 a 94%. (Leikin e Paloucek, 2008; Freye, 2009). Dada a ação vasoconstritora da cocaína, a sua absorção encontra-se comprometida, sendo necessário um intervalo de tempo maior (20 a 30 minutos) para atingir o pico máximo de concentração (Javaid *et al.*, 1983; Foltin *et al.*, 1988; Karch, 2009). Porém, ao contrário das vias fumada e injetável cuja duração dos efeitos é de 30 a 60 minutos, o consumo de cocaína por via intranasal permite que a duração destes seja mais extensa (60 a 120 minutos) (Mantovani *et al.*, 2015).

A via oral não é vulgarmente utilizada devido ao efeito de primeira passagem que reduz a sua biodisponibilidade (30%), para além dos efeitos demorarem cerca de 15 minutos a manifestarem-se (Hollander, 2004; Leikin e Paloucek, 2008; Freye, 2009).

Após entrada na corrente circulatória, a cocaína é rapidamente distribuída pelos tecidos, sobretudo cérebro, baço, rins, pulmão, coração, músculo e fígado (Volkow *et al.*, 1992; Cone, 1995; Mantovani *et al.*, 2015).

Num indivíduo saudável, a cocaína apresenta uma clearance de 2,10 L/minuto, um tempo de semivida entre 0,5 a 4,0 horas (dependendo do padrão do consumo) e um volume de distribuição entre 1 a 3 L/Kg (Chow *et al.*, 1985; Hollander, 2004; Drummer, 2004; Karch, 2009).

3.3.2. Concentração terapêutica, tóxica e letal

Uma análise toxicológica exige quer a identificação das substâncias com relevância toxicológica, quer a interpretação adequada dos resultados obtidos face às variáveis envolvidas. Por conseguinte, a criação de bases de dados com os resultados tanatológicos, toxicológicos e histológicos auxilia o processo de interpretação dos dados obtidos. Contudo, devido a efeitos de tolerância, as concentrações plasmáticas da cocaína (tabela 1) não podem ser diretamente associadas a um efeito específico sem outro tipo de informação adicional (Schulz e Schmoldt, 2003; OCME, 2013; Couper e Logan, 2014).

Tabela 1: Concentrações plasmáticas da cocaína e dos seus metabolitos (adaptado de OCME, 2013).

Substância	Concentração Terapêutica (mg/L)	Concentração Tóxica (mg/L)	Concentração Letal (mg/L)
COC; BZE; EME	0,1-1,0	0,1-5,0	> 0,9

BZE: Benzoilecgonina; COC: Cocaína; EME: Éster Metílico de Ecgonina.

3.3.3. Metabolismo

Uma vez absorvida, a cocaína é rapidamente metabolizada no tecido hepático, tendo como principais metabolitos a benzoilecgonina (BZE) e o éster metílico da ecgonina (EME). Todavia, também se formam metabolitos minoritários como a norcocaína, a *m*- e *p*-hidroxicocaína e a *m*- e *p*-hidroxibenzoilecgonina (Kolbrich *et al.*, 2006).

Inicialmente pensava-se que a BZE era formada apenas por hidrólise química que ocorria de modo espontâneo a pH alcalino (Kolbrich *et al.*, 2006). Porém, atualmente sabe-se que a ação de esterases, nomeadamente a carboxilesterase tipo 1, também promove a formação deste metabolito (Brzezinski *et al.*, 1994; Karch, 2009). Posteriormente, a BZE sofre oxidação, formando-se a *m*- e *p*-hidroxibenzoilecgonina. Já a EME é produzida por hidrólise enzimática, envolvendo 2 tipos de esterases, as colinesterases plasmáticas (por exemplo, a butirilcolinesterase) e as esterases hepáticas, principalmente a carboxilesterase tipo 2 (Kolbrich *et al.*, 2006; Isenschmid, 2010). Estes dois metabolitos maioritários são ainda convertidos noutro composto, a ecgonina, embora os mecanismos não estejam totalmente esclarecidos (figura 5) (Isenschmid, 2010).

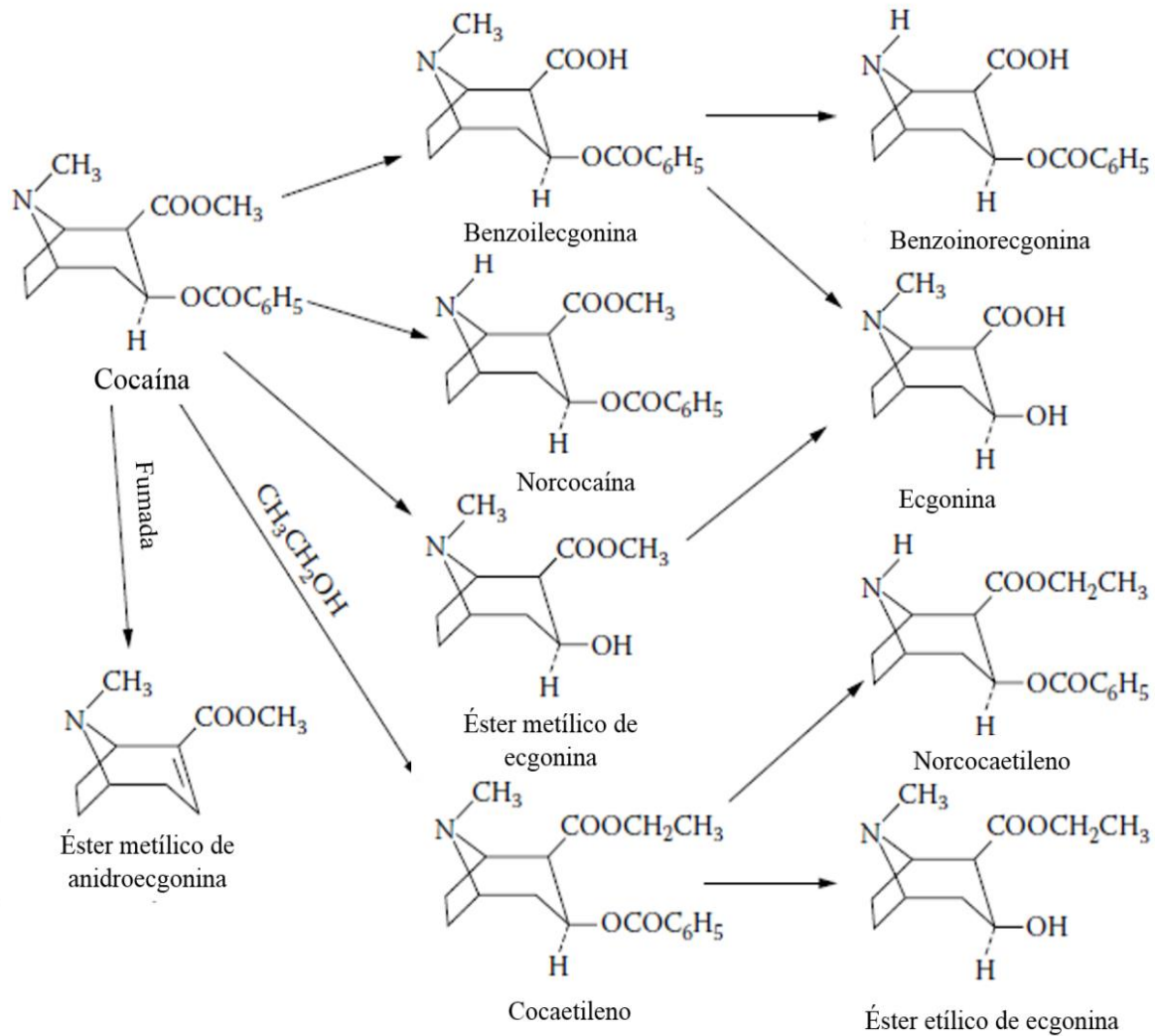


Figura 5: Metabolismo da cocaína (adaptado de Jenkins, 2008).

Cerca de 5% da dose de cocaína sofre ainda uma N-desmetilação, promovendo a formação de um metabolito ativo: a norcocaína (Jenkins, 2008; Goldstein *et al.*, 2009). Esta é posteriormente metabolizada a N-hidroxinorcocaína, que é, por sua vez, oxidada a nitróxido de cocaína (figura 6) (Ndikum-Moffor *et al.*, 1998). Foi proposto por alguns autores que o sistema citocromo P450 se encontra envolvido nestes processos oxidativos, promovendo a formação de radicais livres altamente reativos responsáveis pela toxicidade hepática da cocaína (Kloss *et al.*, 1984; Kovacic, 2005; Isenschmid, 2010), que serão discutidos mais à frente.

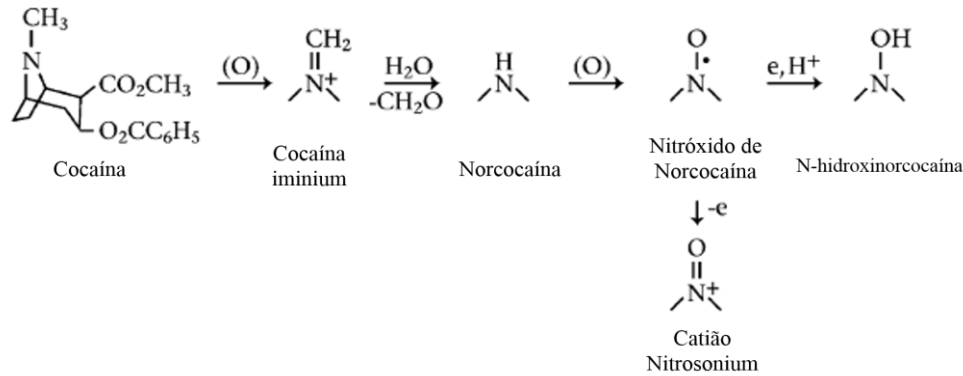


Figura 6: Metabolismo da cocaína, evidenciando a via oxidativa (adaptado de Kovacic, 2005).

Apesar de a norcocaína ser um metabolito minoritário, foi demonstrado que indivíduos com uma deficiência endógena de pseudocolinesterase apresentam níveis elevados deste composto, potenciando a sua toxicidade. Nestes indivíduos, o metabolismo da droga passa a ser feito predominantemente pelas esterases hepáticas, o que leva ao aumento da concentração de norcocaína (Hoffman *et al.*, 1992; Om *et al.*, 1993).

A administração simultânea de cocaína e álcool é algo recorrente no contexto do abuso de drogas. McCance-Katz *et al.* (1993) realizaram um estudo em humanos com o objetivo de avaliar a farmacocinética e os efeitos psicológicos e comportamentais resultantes do uso concomitante destas duas substâncias. Verificaram que apenas os indivíduos que consumiam cocaína e álcool apresentavam um composto ativo presente no plasma: o cocaetileno (McCance-Katz *et al.*, 1993). Este forma-se através de uma transesterificação hepática, catalisada por esterases, que também estão envolvidas no processo de conversão da cocaína em BZE (Bermejo *et al.*, 2006; Karch, 2009).

No estudo de McCance-Katz verificou-se ainda que a combinação entre estes dois compostos permitia aumentar em cerca de 30% os níveis plasmáticos de cocaína, o que não se confirmava quando a droga era administrada sozinha (McCance-Katz *et al.*, 1993). Deste modo, conclui-se que esta combinação permite aumentar e prolongar os efeitos da droga. Porém, estudos realizados em animais demonstraram que este metabolito é mais tóxico que o composto pai (Brookoff *et al.*, 1996; Álvarez *et al.*, 2007). Katz *et al.* (1992) realizaram estudos em animais e concluíram que a cocaína e o cocaetileno eram moléculas equipotentes no que dizia respeito à indução de convulsões. Neste estudo, foi também demonstrado que a cocaína era cerca de 3 a 4 vezes mais potente a induzir efeitos

psicomotores estimulantes. Contudo, o metabolito apresentava maior risco de letalidade (Katz *et al.*, 1992).

Embora menos conhecido, o éster metílico da anidroecgonina (AEME) é o principal produto resultante do processo de pirólise aquando da eliminação do ácido benzóico a elevadas temperaturas. Este composto apenas se encontra presente em amostras de indivíduos que fumam a cocaína (Erzouki *et al.*, 1995; Ragoucy-Sengler e Kintz, 2005). Até agora a farmacologia e farmacocinética do AEME não tem recebido muita atenção por parte dos investigadores. No entanto, já existem estudos em animais que revelaram o seu potencial de indução de broncoconstrição, deduzindo o seu papel nas reações de toxicidade aguda bem como lesões a nível pulmonar (Karch, 2009).

3.3.4. Excreção

A cocaína e os seus metabolitos são eliminados por via urinária, sendo possível recuperar 85 a 90% da droga numa amostra de urina de 24 horas (Jenkins, 2008). Assim, cerca de 1 a 5% da droga é eliminada na forma de composto pai inalterado e entre 75 a 90% é eliminada na forma de BZE e EME (Jatlow, 1988).

A cocaína possui um tempo de semivida relativamente curto, o que faz com que seja eliminada na urina 4 a 6 horas após o consumo. Já os metabolitos BZE e EME, pelo fato do tempo de semivida ser mais longo, 5 e 8 horas, respetivamente, podem ser detetados por um período de 24 a 48 horas após o consumo da droga. Contudo, este período de deteção pode variar consoante a dose administrada e as diferenças interindividuais que afetam a farmacocinética (Jatlow, 1988). Em caso de consumo crónico, as drogas podem ser detetadas na urina até uma semana após o consumo, sendo que em casos extremos esse tempo será mais longo, como é o exemplo da cocaína que pode ser detetada até 22 dias após o último consumo (Jatlow, 1988; Verstraete, 2004).

3.4. Farmacodinâmica: mecanismo de ação e efeitos farmacológicos

3.4.1. Ação anestésica

No século XIX, um estudante alemão, Albert Niemann, dedicou-se à análise das folhas de *coca*, tendo extraído pela primeira vez a cocaína (Isenschmid, 2010). Já no final de

1884, Sigmund Freud dedicou-se ao estudo desta droga e publicou um documento onde descrevia os seus efeitos no sistema nervoso central (Karch, 1999). Apesar dos usos variados que a cocaína teve ao longo dos anos, a terapêutica ficou marcada pela sua utilização como anestésico local (Karch, 1999; Freye, 2009).

Os anestésicos locais baseiam-se num mecanismo de ação bastante simples, consistindo basicamente num bloqueio da geração do potencial de ação, responsável pela condução do estímulo nervoso. Este bloqueio resulta de uma ligação reversível entre o anestésico e os canais de sódio, impedindo a propagação de impulsos elétricos, devido à inibição da despolarização da membrana do axónio e do influxo de iões sódio (figura 7) (Brown *et al.*, 1992; Hollander, 2004; Catterall e Mackie, 2006; Isenschmid, 2010; Rang *et al.*, 2012).

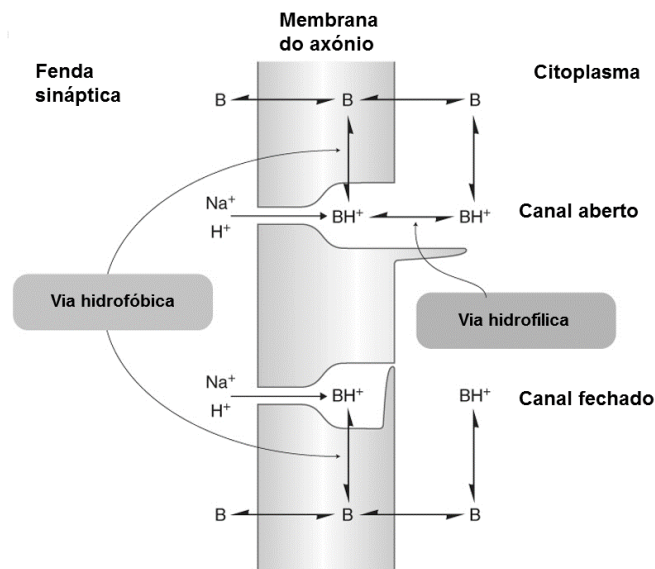


Figura 7: Interação dos anestésicos locais com os canais de sódio. Os compostos anestésicos podem atingir o local de bloqueio na superfície interior da membrana do axónio por espécies carregadas, BH^+ (via hidrofílica), ou diretamente a partir da membrana por espécies neutras, B (via hidrofóbica) (adaptado de Range *et al.*, 2007).

No entanto, a cocaína possui ainda a capacidade de interferir com os transportadores responsáveis pela recaptação das catecolaminas dopamina e noradrenalina, e de serotonina, conduzindo ao aumento dos efeitos simpaticomiméticos, bem como a um forte efeito psicomotor. Como resultado, a cocaína é considerada vasoconstritora, devido à atuação da noradrenalina ao nível dos recetores α que se localizam na vasculatura. Esta característica é bastante útil na clínica, pois normalmente costumam associar-se os

anestésicos locais a vasoconstritores (sobretudo adrenalina). Deste modo, ocorre a diminuição da absorção da substância, promovendo a restrição da sua localização, e, conseqüentemente, a diminuição da toxicidade sistémica (Hollander, 2004; Catterall e Mackie, 2006; Isenschmid, 2010; Rang *et al.*, 2012).

3.4.2. Ação a nível do sistema nervoso central

A dopamina é um neuromodulador que se encontra associado ao controlo motor, endócrino e comportamental. Num processo de comunicação nervosa normal, a dopamina é libertada a partir de vesículas pré-sinápticas. Na fenda sináptica, este neurotransmissor irá ligar-se aos seus recetores que se encontram no neurónio pós-sináptico. O excesso de mediador químico é depois recaptado pelos transportadores para o neurónio pré-sináptico. Se a cocaína estiver presente, liga-se ao transportador da dopamina, bloqueando o seu processo de reciclagem normal. Assim, há um aumento da concentração de neurotransmissor presente na fenda sináptica, resultando numa estimulação crónica do neurónio pós-sináptico (figura 8) (Isenschmid, 2010; Volkow, 2010; Rang *et al.*, 2012).

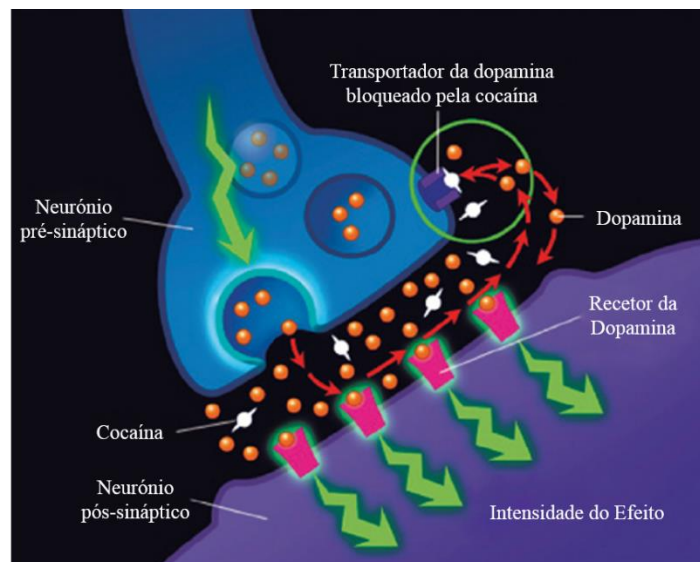


Figura 8: Ação da cocaína nos transportadores e recetores da dopamina localizados na membrana dos terminais dopaminérgicos (pré-sináptico) e pós-sinápticos, respetivamente (adaptado de Volkow, 2010).

Caron *et al.* (1996) realizaram um estudo em ratinhos que permitiu verificar que os efeitos psicoestimulantes eram eliminados em animais *knockout* para o transportador da cocaína. Assim, deduz-se que é a interferência com a dopamina que determina os efeitos

característicos da administração da cocaína (Caron, 1996). Entretanto, Volkow *et al.* (1997) realizaram um outro estudo em humanos que permitiu tirar algumas conclusões importantes, como o fato de a dose de cocaína, que normalmente é utilizada por via endovenosa (0,3-0,6 mg/kg), provocar um bloqueio em cerca de 60-77% dos transportadores da dopamina. No entanto, também constataram que era apenas necessário haver um bloqueio de 47% dos transportadores dopaminérgicos para que os consumidores notassem os efeitos da droga (Volkow *et al.*, 1997).

Apesar da interação com a dopamina ser a mais importante, a cocaína interfere igualmente com os transportadores da serotonina, bloqueando-os, conduzindo ao aumento da atividade serotoninérgica. Este neurotransmissor encontra-se, principalmente, associado à indução de tranquilidade ou medo e regulação do sono, humor e emoções. A interrupção do consumo desta droga provoca alterações a nível dos recetores pré- e pós-sinápticos da serotonina. Este fato parece estar relacionado com o desejo intenso pelo consumo (*craving*) e depressão que se verificam durante a abstinência (Isenschmid, 2010; Madras, 2014).

Para além destas interações, existem evidências, menos significativas, da interferência da cocaína com outros recetores como os N-metil-D-aspartato glutamatérgicos, muscarínicos e sigma (Ritz e George, 1997; Kalivas, 2009; Madras, 2014). A interferência com os recetores N-metil-D-aspartato glutamatérgicos parece estar relacionada com os mecanismos de tolerância, sensibilização e dependência física (Trujillo e Akil, 1995), que serão elucidados mais à frente.

Assim, inicialmente, e para doses baixas de cocaína, o primeiro efeito notado é a euforia. Além deste, o indivíduo também se sente energético, desinibido, corajoso e num estado de alerta (principalmente às sensações visuais, sonoras e táteis). Possui um aumento da atividade motora bem como da capacidade de abstração, concentração, atenção e memorização e, temporariamente, pode haver uma diminuição da sensação de sono e de fome (Hollander, 2004; Freye, 2009; Volkow, 2010).

3.5. Toxicidade da cocaína

3.5.1. Hipertermia

O consumo de cocaína também se encontra associado a distúrbios metabólicos como a hipertermia. Normalmente, as overdoses fatais por cocaína relacionam-se com elevadas concentrações plasmáticas da droga (3-6 mg/L), porém a morte pode ocorrer com níveis plasmáticos cerca de 10 a 20 vezes inferiores, caso se verifique o desenvolvimento de um estado hipertérmico (Crandall *et al.*, 2002).

A propriedade termogénica da cocaína advém da sua interferência com a função termorreguladora do organismo, resultando no comprometimento do mecanismo de perceção e dissipação da temperatura corporal. O ajuste da temperatura corporal inclui a ativação das fibras colinérgicas, o que leva à vasodilatação cutânea e produção de suor, bem como a adaptação comportamental (por exemplo, a regulação da temperatura ambiente). A cocaína distingue-se de todas as outras drogas simpaticomiméticas por desencadear um efeito vasoconstritor acompanhado pela atenuação do efeito vasodilatador e produção de suor, o que contribui para o desenvolvimento da hipertermia. Estas propriedades hipertérmicas da cocaína também estão associadas à agitação e incrementação da atividade motora nos indivíduos consumidores desta droga, podendo desenvolver outras complicações como coagulação intravascular disseminada, rabiólise e falência orgânica (Crandall *et al.*, 2002; Zimmerman, 2012).

3.5.2. Ação a nível do sistema cardiovascular

A cocaína é uma droga que afeta quase todos os órgãos do organismo, sendo os efeitos sentidos principalmente a nível do sistema nervoso central e cardiovascular. Algumas doenças cardiovasculares encontram-se associadas ao consumo da cocaína, como por exemplo, isquemia e enfarte agudo do miocárdio, cardiomiopatia, hipertensão, taquicardia, aneurisma arterial coronário, aterosclerose acelerada, entre outros (White e Lambe, 2003; Hollander, 2004).

Na literatura são referidos vários mecanismos através dos quais é possível explicar a toxicidade da cocaína a nível cardiovascular. Por um lado, a cocaína induz a vasoconstrição das artérias coronárias, por atuar nos recetores α -adrenérgicos e interferir

com a recaptação das catecolaminas. Além disto, este mecanismo é ainda induzido pelo aumento dos níveis de endotelina-1 (vasoconstritor) e redução da produção de monóxido de azoto (vasodilatador). Assim, o consumo de cocaína promove o aumento do ritmo cardíaco e da pressão arterial e reduz o fornecimento de oxigénio aos tecidos, o que resulta em isquemia miocárdica (Lange e Hillis, 2001; McCord *et al.*, 2008).

Por outro lado, como já foi referido, a cocaína ainda atua nos canais de sódio, estabilizando-os num estado inativo e inibindo a permeabilidade da membrana a este ião, bloqueando a propagação de impulsos elétricos. Por conseguinte, este mecanismo leva ao atraso da despolarização ventricular, à diminuição da contratilidade dos cardiomiócitos e à depressão da função ventricular (Afonso *et al.*, 2007; O'Leary e Hancox, 2010).

3.5.3. Ação a nível do sistema respiratório

Também a nível do sistema respiratório surgem efeitos resultantes do uso da cocaína. Algumas referências na literatura demonstram que uma determinada dose de *crack*, que é fumada, induz modificações agudas no trato respiratório, o que não se verifica quando a mesma dose desta droga é administrada por via IV (Tashkin *et al.*, 1996; Glauser e Queen, 2007; Restrepo *et al.*, 2009). As complicações associadas englobam pneumotórax, broncoconstrição, pneumomediastino, hemorragia pulmonar, edema pulmonar não cardiogénico, exacerbação da asma, entre outros (Haim *et al.*, 1995; Restrepo *et al.*, 2007; Herculiani *et al.*, 2009). Isto deve-se não só ao efeito irritante local da droga (que induz o broncospasmo) mas também ao fato do pulmão estar exposto a várias substâncias como o próprio vapor da cocaína, produtos tóxicos resultantes da pirólise (por exemplo, o éster metílico da anidroecgonina), impurezas, adulterantes do *crack* (como cafeína, lidocaína e prilocaína) e produtos resultantes da combustão da própria cocaína (Tashkin *et al.*, 1996; Baldwin *et al.*, 2002).

Como já foi referido, a cocaína é conhecida pelas suas propriedades vasoconstritoras que se destacam particularmente a nível cardíaco e nasal. Os mecanismos envolvidos nas alterações pulmonares ainda não são totalmente conhecidos. No entanto, sabe-se que a vasculatura pulmonar é constituída por recetores adrenérgicos que são ativados pelas catecolaminas libertadas. Assim, a estimulação dos recetores α -adrenérgicos encontra-se associada à contração dos capilares brônquicos, enquanto a ativação dos recetores β -

adrenérgicos induz a dilatação do músculo brônquico. A cocaína atua como um agonista adrenérgico, induzindo o aumento da permeabilidade dos vasos pulmonares, o que resulta em edema pulmonar (Herculiani *et al.*, 2009).

3.5.4. Ação a nível do sistema hepático

Atualmente sabe-se que a cocaína é uma droga hepatotóxica, sendo que o primeiro caso onde se comprovou este fato em humanos foi em 1987, confirmado pela presença de inflamação e necrose periportal com infiltração moderada de lípidos. Até então, a hepatotoxicidade só tinha sido reportada em modelos animais; contudo, este primeiro caso era consistente com as conclusões de estudos prévios (Evans e Harbison, 1978; Perino *et al.*, 1987; Mehanny e Abdel-Rahman, 1991).

Os estudos que entretanto foram realizados demonstraram a existência de uma relação entre a bioativação da cocaína, mediada pelo citocromo P450, e a inibição da metabolização hepática com a sua hepatotoxicidade. Após a formação do metabolito norcocaína, segue-se a sua oxidação no tecido hepático, formando-se metabolitos oxidativos, incluindo a N-hidroxinorcocaína e o nitróxido de norcocaína. A oxidação deste último relaciona-se com a formação de um catião altamente reativo, a norcocaína nitrosonium, que se liga de forma irreversível às proteínas celulares, originando a morte celular. Contudo, o nitróxido de norcocaína pode também ser reduzido a N-hidroxinorcocaína, contribuindo para a formação de radicais livres, *stress* oxidativo e, por último, morte celular (Boelsterli e Göldlin, 1991; Ndikum-Moffor *et al.*, 1998; Valente *et al.*, 2012).

A interferência da cocaína com o sistema antioxidante dos hepatócitos (superóxido dismutase, glutatona peroxidase, catalase, entre outros) e depressão da respiração mitocondrial a nível hepático também é conhecida e bastante estudada. Apesar da mitocôndria ser um organelo celular importante na regulação da apoptose celular, sabe-se que a cocaína induz necrose e apoptose nos hepatócitos a diferentes concentrações (Valente *et al.*, 2012). O mecanismo de necrose hepática é explicado com base na depleção intracelular de ATP induzida pela cocaína, contribuindo para a inibição da respiração mitocondrial. Todavia, a cocaína também tem a capacidade de estimular uma

casca de reações, incluindo a ativação da caspase-3 e libertação do citocromo c, que induzem a apoptose celular (figura 9) (Boess *et al.*, 2000).

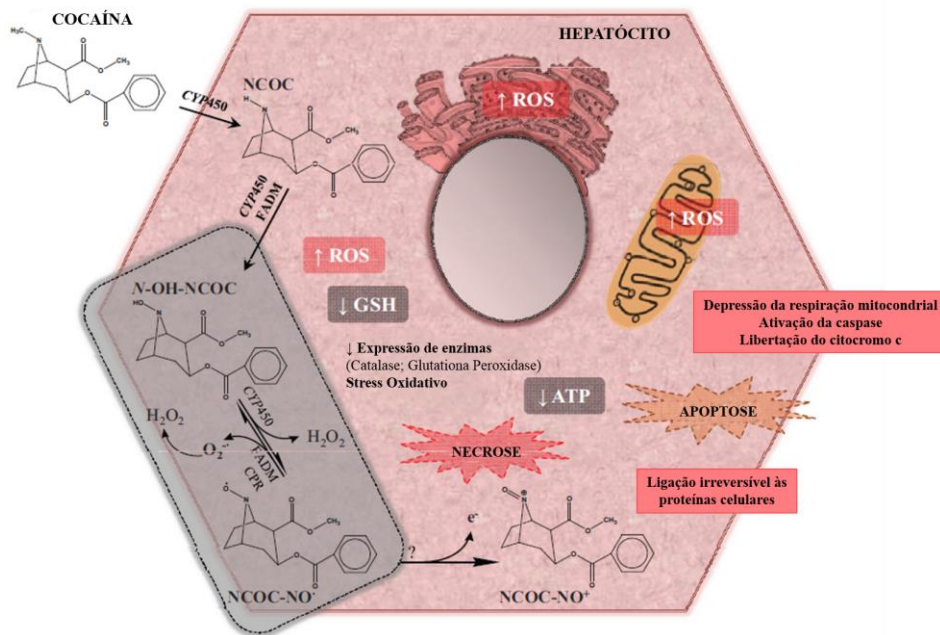


Figura 9: Mecanismo de hepatotoxicidade (adaptado de Valente *et al.*, 2012). ATP: Adenosina Trifosfato; CPR: NADPH Citocromo P450 Redutase; CYP450: Citocromo P450; FADM: Monooxigenase dependente do Dinucleótido Flavina-Adenina; GSH: Glutationa reduzida; NCOC: Norcocaína; NCOC-NO[•]: Nitróxido de Norcocaína; NCOC-NO⁺: Norcocaína Nitrosonium; N-OH-NCOC: N-Hidroxinorcocaína; ROS: Espécies Reativas de Oxigênio.

3.5.5. Ação a nível do sistema renal

A insuficiência renal aguda é uma lesão induzida pela cocaína, sendo associada ao consumo crónico da droga e surge como um problema secundário associado a múltiplos padrões de danos renais como a rabdomiólise, hipertermia, hipertensão, nefropatia antglomerular da membrana basal, enfarte renal e microangiopatia trombótica (Lombard *et al.*, 1988; White e Lambe, 2003; Glauser e Queen, 2007; Madhrira *et al.*, 2009).

Os mecanismos que permitem explicar a nefrotoxicidade da cocaína não são totalmente conhecidos, porém alguns autores sugerem possíveis mecanismos fisiológicos envolvidos na toxicidade renal, incluindo alterações na síntese da matriz glomerular e indução da aterogénese renal. Também foi demonstrado que a cocaína potenciava a agregação das plaquetas, apresentando um efeito trombótico, que juntamente com o seu efeito

vasoconstritor bem como a produção de metabolitos oxidativos a nível renal são responsáveis pelo desenvolvimento de patologias renais (Bemanian *et al.*, 2005; Valente *et al.*, 2012).

A tabela 2 apresenta uma síntese dos principais sintomas e efeitos tóxicos associados ao consumo de cocaína.

Tabela 2: Resumo dos principais sintomas e efeitos tóxicos resultantes do uso de cocaína (adaptado de Mantovani *et al.*, 2015).

SINTOMAS FÍSICOS E PSÍQUICOS	EFEITOS TÓXICOS					
	SISTEMA CARDIOVASCULAR	SISTEMA RESPIRATÓRIO	SISTEMA NERVOSO CENTRAL	TRATO GASTROINTESTINAL	DISTÚRBIOS METABÓLICOS	OUTROS
Sensação de euforia e prazer	Hipertensão	Broncopneumonia	Cefaleias	Isquemia intestinal e gástrica	Hipertermia	Insuficiência Renal
Estado de vigília	Angina do peito	Pneumotórax	Convulsões	Gastrite		
Sensação de bem-estar		Edema pulmonar	Acidente vascular cerebral (AVC)	Úlceras gástricas		
Perda da sensação de cansaço e fadiga	Isquemia e enfarte do miocárdio	Pneumomediastino	Psicose	Necrose hepatocelular	Rabdomiólise	
Melhoria das capacidades motoras e intelectuais		Rinite	Esquizofrenia			
Autoconfiança		Asma				
Aumento da frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal	Arritmias	Bronquite	Depressão	Falência hepática	Hipoglicemia	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)
		Embolia pulmonar		Hepatite isquémica e viral		
Espasmos musculares	Rutura da aorta	Pneumonite intersticial	Transtornos obsessivo-compulsivos	Hemorragia hepática	Hipocalémia	
		Enfisema				
Sudorese	Míocardite	Perfuração do septo nasal	Aneurismas	Esofagite	Hipercalemia	Hepatite B e C
		Necrose isquémica das cartilagens nasais	Hemorragias intracranianas			
Mídiase		Simusite e Laringite				

3.5.6. Abuso e dependência

O uso repetido de cocaína, à semelhança de outras substâncias ilícitas, induz adaptações fisiológicas no organismo, resultando em dependência física e tolerância. Assim, quanto

mais rápido surgem os efeitos após a administração, maior será a probabilidade do indivíduo perder o controlo a nível de utilização da droga. Porém, isto varia entre os indivíduos devido ao polimorfismo existente em enzimas e transportadores que participam nos processos de absorção, metabolização e excreção e até mesmo nos recetores onde estas substâncias atuam (Madras, 2014).

Estas adaptações fisiológicas são conhecidas como fenómenos farmacológicos que acontecem de forma natural, sendo ótimos exemplos da plasticidade neuronal e comportamental. A mais conhecida é a tolerância, caracterizada pela diminuição da resposta à mesma dose administrada. Isto leva a que se tenha de aumentar a dose de modo a obter o mesmo efeito (Catterall e Mackie, 2006). No entanto, há relatos de estudos em animais em que se verifica o contrário, ou seja, existir um aumento da resposta após a administração repetida da mesma quantidade de substância (tolerância reversa ou sensibilização) (Kalivas e Duffy, 1990).

A dependência física é o resultado da adaptação dos mecanismos homeostáticos ao uso contínuo da droga. Este pode afetar vários sistemas biológicos e, por isso, o organismo estabelece um novo estado de equilíbrio de maneira a adaptar-se à presença da substância (Catterall e Mackie, 2006). Após a manifestação desta condição fisiológica, a abstinência irá levar ao surgimento de sintomas e efeitos desagradáveis, o que requer a manutenção do consumo, mantendo a normalidade das funções (Trujillo e Akil, 1995; Filip *et al.*, 2005).

Os sintomas característicos da síndrome da abstinência incluem paranóia, depressão, intenções suicidas, ansiedade, sonolência e *craving* (Freye, 2009). O estudo de Martin *et al.* (1989), que consistiu na avaliação de indivíduos que recuperavam do uso crónico da cocaína, permitiu demonstrar a intensidade do desejo manifestado por estes sujeitos, uma vez que o *craving* surgiu cerca de 1 a 2 semanas após a descontinuação do uso da droga (Martin *et al.*, 1989).

3.5.7. Efeitos na gravidez

Atualmente também as consequências resultantes do uso da cocaína durante a gravidez têm vindo a merecer um grande destaque devido ao potencial teratogénico, danos a longo

prazo na saúde e no desenvolvimento cognitivo e neuronal (Pichini *et al.*, 2003; Cressman *et al.*, 2014). Estudos realizados em primatas permitiram concluir que o uso da cocaína durante a gravidez (nomeadamente durante o período correspondente ao segundo trimestre de gestação humana) desencadeia alterações a nível cerebral levando a uma diminuição do número de neurónios presentes no córtex cerebral e a modificações na densidade cerebral (Lidow e Song, 2001a; Lidow e Song, 2001b).

A exposição do feto à cocaína é problemática, uma vez que se encontra associada a complicações futuras. Estudos realizados em humanos e animais mostram que esta exposição manifesta os seus efeitos a longo prazo. Isto porque o feto não é só um alvo direto da ação da cocaína, mas também se encontra vulnerável do ponto de vista neuronal devido aos efeitos da droga na mãe e na placenta (Smith *et al.*, 2001).

Também Woods *et al.* (1987) realizaram um estudo em ovelhas prenhas de modo a verificar os efeitos da cocaína na mãe e no feto. Os autores concluíram que a capacidade vasoconstritora da cocaína, juntamente com a sua ação anorética, é responsável pela má nutrição da mãe e restrição do fluxo sanguíneo uterino, o que diminui a cedência de nutrientes e oxigénio ao feto, causando problemas no desenvolvimento mental (Woods *et al.*, 1987; Smith *et al.*, 2001). A tabela 3 resume os principais problemas obstétricos, fetais e neonatais associados ao consumo de cocaína durante a gravidez (Plessinger e Woods Jr, 1998; White e Lambe, 2003; Hollander, 2004; Freye, 2009; Karch, 2009; Cressman *et al.*, 2014).

Tabela 3: Resumo dos principais efeitos adversos durante o período gestacional e neonatal associados ao consumo de cocaína (adaptado de Freye, 2009).

PERÍODO GESTACIONAL	PERÍODO NEONATAL
Aumento da incidência de natimortos	Morte fetal
Aumento da incidência de abortos	Crianças com uma incapacidade de regular a temperatura corporal e glicémia
Partos prematuros/Aborto espontâneo	Baixo peso à nascença
Paragem cardíaca perinatal	Paralisia cerebral
Rutura da placenta	Convulsões ou Acidentes Vasculares Cerebrais
Convulsões maternas	Deficiência auditiva e visual
Rutura do útero	Anormalidades do trato urinário
Hipertensão gestacional	Autismo
Retardação mental e de crescimento intrauterino	

3.5.8. Síndrome do delírio agitado

A maioria dos indivíduos são consumidores crónicos o que indica que estão habituados a doses elevadas de cocaína. Esta síndrome começa por se manifestar através de uma hipertermia, seguida de episódios psicóticos e violentos, sendo que a paragem cardíaca ocorre umas horas mais tarde (Karch e Stephens, 1999; White e Lambe, 2003). Esta psicose deriva não só da hipertermia mas também está associada à elevada regulação dos recetores K₂ na amígdala (Staley *et al.*, 1997). Em termos fisiológicos, a morte por esta síndrome resulta de uma arritmia cardíaca fatal devido a um estado hiperadrenérgico do indivíduo.

O esforço físico feito pelos sujeitos estimula o sistema nervoso simpático, levando a uma libertação de catecolaminas. No entanto, a concentração máxima de noradrenalina e adrenalina só é atingida cerca de 2 a 5 minutos após ter cessado a atividade física e pode atingir níveis cerca de 10 vezes superiores às concentrações basais destes neurotransmissores (Paterson *et al.*, 1993; Lange e Hillis, 2001; Maio e Maio, 2006). Apesar de instituídas medidas de suporte de vida, a maioria dos sobreviventes acabam por desenvolver outras complicações associadas, como rabdomiólise e falência orgânica (Williams e Samuel, 2009).

3.5.9. Síndrome do *body packer*

Uma das técnicas mais usadas hoje em dia para fazer o tráfico de drogas é o uso de seres humanos como “correios da droga”. O termo *body packer* é usado para descrever os indivíduos que engolem invólucros que contêm a droga (designados por bolotas). No entanto, estes também podem ser alocados noutras cavidades corporais como o reto e a vagina, sendo designados de *body pushers* (Deitel e Syed, 1973; Schaper *et al.*, 2007; Shahnazi *et al.*, 2011). As complicações associadas a esta técnica são diversas, tais como a obstrução intestinal, morte súbita e a overdose devido à rotura dos invólucros. A overdose por cocaína caracteriza-se por efeitos a nível cardiovascular, gastrointestinal e cerebral. Sendo assim, o indivíduo apresentará os seguintes sinais e sintomas: euforia, mudanças de comportamento, midríase, taquicardia, hipertensão, ansiedade, desorientação, depressão respiratória, ataque apoplético, coma, colapso cardiovascular e, por fim, morte (Stewart *et al.*, 1990; Karch e Stephens, 1999; Shahnazi *et al.*, 2011).

3.5.10. Outros

Além dos efeitos supracitados, são ainda relatadas na literatura inúmeras consequências a nível de outros órgãos como, por exemplo, ulceração gástrica, fibrose retroperitoneal, perfuração intestinal, enfarte visceral e isquemia intestinal aguda, sendo estas associadas ao tráfico de drogas através dos *body packers* (Gourgoutis e Das, 1994; Muñiz e Evans, 2001; Glauser e Queen, 2007).

O consumo de cocaína por via intranasal está associado ao aparecimento de alguns efeitos particulares como a necrose e perfuração do septo nasal, osteomielite do osso nasal e maxilar, sinusite, ulceração nasofaríngea, entre outros (Villa, 1999; Hollander, 2004; Goodger *et al.*, 2005).

3.6. Sinais e sintomas das intoxicações agudas

Uma intoxicação aguda por cocaína caracteriza-se pelo aumento das frequências cardíaca e respiratória, hipertermia, aumento da pressão arterial, midríase, estado de alerta, aumento da atividade motora, entre outros. Deste modo, o regime terapêutico é direcionado para a terapia sintomática, uma vez que não existe um antídoto disponível, dando especial atenção a possíveis arritmias cardíacas que podem resultar em fibrilação ventricular e morte (Gay *et al.*, 1975; Gay, 1982; Freye, 2009).

Antes de considerar uma terapia farmacológica deve-se garantir que a temperatura corporal do indivíduo se encontra estabilizada. Com intuito de atenuar a hipertermia, são recomendados banhos de gelo, de modo a diminuir a temperatura corporal para valores inferiores a 39°C (Gay, 1982; Leikin e Paloucek, 2008).

Um dos sintomas mais comuns nestes doentes é a dor peitoral, que em 6% dos casos se encontra associada à isquemia miocárdica e cerca de 15% está associada à síndrome coronária aguda (Hollander e Henry, 2006). Desta forma, torna-se importante a avaliação do eletrocardiograma, hemograma completo, monitorização da função renal, cardíaca, eletrólitos e creatina fosfoquinase bem como a administração de oxigénio (McCord *et al.*, 2008).

3.7. Tratamento das intoxicações agudas

A monitorização dos sinais vitais é de extrema importância, pois a qualquer momento o indivíduo pode entrar em paragem cardiorrespiratória, devendo iniciar-se de imediato a reanimação cardiorrespiratória. Caso não se obtenha resultados, a administração de vasopressina é aconselhado, visto ter demonstrado melhor eficácia do que a adrenalina (fármaco de primeira-linha para a reanimação cardíaca) nestes casos. No entanto, em casos de delírio agitado, está provado que esta aumenta a probabilidade de morte dos indivíduos, uma vez que aumenta o consumo de oxigénio pelo miocárdio enquanto a vasopressina promove o seu transporte para o músculo cardíaco, melhorando a perfusão coronária (McIntyre, 2004; Wenzel *et al.*, 2004).

As benzodiazepinas representam uma classe de fármacos úteis no tratamento de doentes que, além de mostrarem sinais de isquemia miocárdica, se apresentam ansiosos, em taquicardia ou hipertensos. Além da ação ansiolítica, as benzodiazepinas têm ainda a capacidade de atenuarem os efeitos tóxicos a nível cardiovascular e cerebral, diminuindo tanto a pressão arterial como o débito cardíaco, sendo, por isso, consideradas como fármacos de primeira-linha neste tipo de tratamento (Guinn *et al.*, 1980; Hollander, 1995; Maraj *et al.*, 2010). É aconselhado a sua administração por via intramuscular ou via IV, quando o doente rejeita a administração por via oral, o que pode estar associado à manifestação de agressividade e agitação psicomotora intensa (Citrome e Volavka, 1999; Maraj *et al.*, 2010).

É ainda referido na literatura que a administração conjunta de lorazepam e nitroglicerina parece ser mais efetiva no alívio da dor peitoral do que apenas a administração de nitroglicerina, apesar do mesmo não se ter verificado para o diazepam (Baumann *et al.*, 2000; Honderick *et al.*, 2003).

Pode acontecer que alguns indivíduos, mesmo após receberem a administração de oxigénio, aspirina, benzodiazepinas e nitroglicerina, continuem com dores no peito. Para estas situações o fármaco recomendado é a fentolamina (antagonista dos recetores α -adrenérgico), que permite induzir a vasodilatação. Os bloqueadores β -adrenérgicos não são úteis no tratamento deste sintoma (Hollander, 1995; Lange e Hillis, 2001).

A utilidade dos antagonistas dos canais de cálcio no tratamento da dor peitoral associada à cocaína ainda não se encontra totalmente conhecida. Apesar disto, o verapamilo é considerado eficaz em reverter a vasoconstrição provocada pela cocaína, devendo ser

administrado após as benzodiazepinas de modo a garantir alguma proteção a nível do sistema nervoso central (Hollander, 1995; Hollander e Henry, 2006).

A tabela 4 resume as opções terapêuticas disponíveis no tratamento sintomático de uma sobredosagem de cocaína.

Tabela 4: Opções terapêuticas no tratamento da intoxicação aguda por cocaína (adaptado de Freye, 2009).

TAQUICARDIA	HIPERTERMIA
<ol style="list-style-type: none"> 1. Labetolol, 0,25 mg/Kg 2. Esmolol, 100 mg/Kg/min 3. Lidocaína, 50-100 mg 4. Bloqueador dos canais de cálcio (segunda linha, por exemplo Verapamilo), 2,5-5,0 mg 	<ul style="list-style-type: none"> • Banhos de gelo • Cubos de gelo nas axilas/virilhas • Dantroleno, 2,5 mg/Kg
FIBRILAÇÃO VENTRICULAR	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Desfibrilador, 200-400 J 	
HIPERTENSÃO	CONVULSÕES
<ol style="list-style-type: none"> 1. Infusão de nitroprussiato de sódio 2. Urapidil, 25-50 mg 3. Infusão de nitroglicerina 4. Nifedepina 5. Clonidina 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Diazepam, 10-20 mg 2. Midazolam, 5-15 mg 3. Fenobarbital, 50-100 mg 4. Clonazepam, 1-2mg

O recurso a antipsicóticos nestas situações é questionável e potencialmente perigoso. Sabe-se que este tipo de medicação intensifica o risco de disritmias cardíacas, que no caso de indivíduos que sejam medicados com outros fármacos, como os antidepressivos tricíclicos, apresentam um elevado risco desse efeito ser potenciado (Witchel *et al.*, 2003). Sendo assim, a administração de antipsicóticos deve ser ponderada apenas quando o indivíduo se encontra no seu estado normal (calmo, sinais vitais estáveis e sem risco de morte súbita), porque um comportamento psicótico pode derivar de uma doença mental ou do uso de drogas de abuso (Maio e Maio, 2006).

Uma outra situação alvo de cuidados médicos é o *body packing*. Aquando de uma suspeita, é importante recorrer a uma examinação médica, que deve incluir um exame físico (avaliar o estado mental, sinais vitais, tamanho da pupila, locais de venopunção, sinais de obstrução intestinal, procura de pacotes nas cavidades corporais, como vagina e reto, sinais de intoxicação, radiologia na zona do peito e abdominal para a procura de novos pacotes) e a obtenção detalhada de todos os pormenores relacionados com o tipo e quantidade da droga, tipo de pacote usado, entre outros (Stewart *et al.*, 1990; Shahnazi *et al.*, 2011).

A terapêutica irá assim atuar através de um procedimento cirúrgico para remover os pacotes e, ainda, recorrendo ao uso de diazepam (via IV) para o tratamento de intoxicação mediana enquanto o propranolol é reservado para overdoses mais severas (Stewart *et al.*, 1990; Schaper *et al.*, 2007). Muitas vezes também se recorre à administração oral de bicarbonato, para diminuir a absorção gastrointestinal da cocaína (Leikin e Paloucek, 2008). O uso de laxantes (como a lactulose) promove a excreção fecal, no entanto o tratamento mais eficaz continua a ser a cirurgia (Stewart *et al.*, 1990).

IV. COCAÍNA EM TOXICOLOGIA FORENSE

4.1. Áreas de aplicação da Toxicologia Forense

A Toxicologia Forense é uma das áreas de aplicação da toxicologia, de características essencialmente analíticas, com importância fundamental para o esclarecimento de questões judiciais (por exemplo, crimes) presumivelmente relacionadas com intoxicações, para as quais importa identificar e quantificar substâncias tóxicas em amostras clínicas ou *post-mortem*. Apresenta um vasto campo de ação envolvendo áreas relacionadas com o indivíduo vivo ou vitimado, tais como ocupacional, ambiental, saúde pública e regulamentar (Rangel, 2003; Dinis-Oliveira *et al.*, 2010b). Existem essencialmente 3 áreas de aplicação da Toxicologia Forense: a toxicologia *post-mortem*, a toxicologia comportamental e o controlo de drogas de abuso (Wyman, 2012), que serão seguidamente abordadas.

4.1.1. Toxicologia *post-mortem*

Esta é uma área direcionada para os estudos *post-mortem*, em que o principal objetivo da investigação é estabelecer se as substâncias, tais como álcool, drogas, fármacos e outras, foram a causa ou contribuíram para a morte do indivíduo, através da sua identificação e quantificação em amostras biológicas (Logan e Goldberger, 2010). As investigações toxicológicas *post-mortem* justificam-se em casos de suspeita de crime (por exemplo, intoxicação homicida), acidentes de trabalho (por exemplo, intoxicações com pesticidas), morte violenta (provocada por agentes externos, como as intoxicações medicamentosas ou acidentes de viação) e morte súbita (morte inesperada em indivíduo tido como saudável) (Gerostamoulos *et al.*, 2009). Os exames toxicológicos *post-mortem* podem também ser solicitados pelo médico-legista durante a autópsia aquando da visualização

de (i) lesões anátomo-patológicas de doença natural que, apesar de interpretáveis como causa imediata de morte (por exemplo, embolias pulmonares, broncopneumonias, entre outras), podem supor a existência de uma causa básica diferente (por exemplo, consumo de drogas); (ii) lesões anátomo-patológicas indicativas de uma morte violenta (por exemplo, a cor carminada do cadáver característica de intoxicação aguda por monóxido de carbono) e (iii) ausência de lesões anátomo-patológicas que permitam explicar o mecanismo de morte (Poklis, 1997; Karch, 2008).

No entanto, em casos de suspeita de intoxicação, não é suficiente proceder apenas à observação do cadáver para determinar a causa da morte, uma vez que as lesões anátomo-patológicas associadas são inespecíficas. Estas situações implicam o registo de indícios como o reconhecimento do cenário onde ocorreu a morte, locais de venopunção recente, presença de restos de medicamentos no conteúdo estomacal, entre outros, o que facilita a identificação do(s) agente(s) envolvido(s) (Rangel, 2003; Skopp, 2004; Flanagan e Connally, 2005).

4.1.2. Toxicologia comportamental

A toxicologia comportamental, também conhecida como toxicologia da performance humana, pretende avaliar a alteração do comportamento humano pela presença de drogas. Assim, pode incluir investigações em casos de homicídio, suicídio, violência doméstica, agressão sexual, acidente de viação, entre outros, decorridos sob a influência de drogas. As principais substâncias associadas a estas modificações são o álcool, as drogas ilícitas e os fármacos corretamente prescritos, incorretamente usados ou usados de forma abusiva (como os antidepressivos e as benzodiazepinas) (Appenzeller *et al.*, 2005; Logan e Goldberger, 2010; Wyman, 2012).

A amostra biológica mais utilizada para estabelecer a correlação entre a alteração comportamental e a presença do agente psicoativo é o sangue (Concheiro *et al.*, 2006). No entanto, apenas para o álcool existe uma relação bem estabelecida entre a concentração plasmática e a indução de alterações na performance humana. Embora a urina, o cabelo, o suor e a saliva sejam úteis para o rastreio de substâncias, não existe uma relação direta entre a concentração da droga nestas amostras e a alteração psicomotora (Logan e Goldberger, 2010; Dinis-Oliveira *et al.*, 2010b; Phillips e Brewer, 2011). De fato, apesar de a urina ser uma das amostras mais recorrentes em ensaios de rastreio, a

presença da droga apenas indica que o suspeito a consumiu. É necessário recorrer à sua deteção no sangue para verificar se a droga é a responsável pelas alterações comportamentais verificadas, uma vez que não se verifica uma relação direta entre a concentração da substância na urina e as alterações de performance (Heit e Gourlay, 2004; Dinis-Oliveira *et al.*, 2010b).

A avaliação do estado influenciado por substâncias psicotrópicas é crucial no cumprimento da lei da fiscalização da condução rodoviária. De acordo com o disposto no artigo 81º (Decreto-Lei 44/2005), a condução sob influência de álcool ou substâncias psicotrópicas é proibida. Relativamente a estas últimas, os grupos particularmente avaliados são os canabinóides, a cocaína e seus metabolitos, os opiáceos e as anfetaminas e derivados (PGDL, 2007). A deteção é feita a partir de um exame de rastreio, recorrendo a amostras de saliva, suor ou urina e realizado pelas entidades fiscalizadoras e/ou estabelecimentos de saúde. Caso o resultado seja positivo, é recolhida uma amostra de sangue para posterior confirmação pelo Serviço de Toxicologia Forense do Instituto Nacional de Medicina Legal. Nestes casos, as técnicas analíticas de eleição são a cromatografia líquida ou gasosa, acopladas à espetrometria de massa, com o intuito de identificar as substâncias que constam no quadro 1 do anexo V da portaria 902-B/2007 (tabela 5) (Dinis-Oliveira *et al.*, 2010b; SICAD, 2007).

Tabela 5: Quadro 1 do Anexo V da Portaria 902-B/2007 e respetivos valores de *cut-off* para exame de rastreio na urina (adaptado de SICAD, 2007).

GRUPO	CONCENTRAÇÃO (ng/ml)	SUBSTÂNCIA
Canabinóides	50	Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) 11-Hidroxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-OH) 11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH)
Opiáceos	300	Morfina 6-Monoacetilmorfina (6-MAM)
Cocaína e metabolitos	300	Cocaína Benzoilecgonina
Anfetaminas e derivados	1000	Anfetamina Metanfetamina 3,4-Metilenodioxianfetamina (MDA) 3,4-Metilenodioximetanfetamina (MDMA) 3,4-Metilenodioxietanfetamina (MDE; MDEA) 3,4-Metilenodioxifenil-2-butamina (MBDB)

A cocaína é considerada um forte estimulante do sistema nervoso central e como tal, induz alterações na capacidade psicomotora e percepção dos indivíduos. Alguns dos efeitos da cocaína que levam a uma condução de risco são o aumento de confiança, euforia, aumento do estado de alerta, diminuição do estado de fadiga e, após o período de exaltação, ansiedade, taquicardia e midríase (MacDonald *et al.*, 2008; Polla *et al.*, 2009; Penning *et al.*, 2010).

4.1.3. Controlo de drogas de abuso

O rastreio de drogas ilícitas aplica-se em situações de rotina, como pré-requisito para emprego, em acidentes (de trabalho e viação) e suspeita de consumo. A população alvo deste tipo de controlo é bastante específica como é o caso dos militares, agentes federais e estatais, atletas de alta competição, condutores de veículos especiais (por exemplo, transporte de mercadorias perigosas), trabalhadores em indústrias nucleares e empresas privadas. Para isso, os profissionais recorrem a amostras de urina e a métodos analíticos de rastreio altamente sensíveis e bem definidos, com o intuito de diminuir o risco de erros (Hawks e Chiang, 1986; Mottram, 2003; Logan e Goldberger, 2010). Os principais compostos pesquisados nestes ensaios são os metabolitos da marijuana, metabolitos da cocaína, opiáceos (morfina), fenciclidina (principalmente nos EUA) e anfetaminas (Caplan e Goldberger, 2001).

4.2. Investigação toxicológica

A investigação toxicológica de uma intoxicação fatal divide-se em 3 etapas: i) obtenção da história completa do caso e colheita de amostras, ii) análises toxicológicas e iii) interpretação dos resultados das análises. Assim, tem como objetivos o diagnóstico e interpretação da intoxicação, no sentido de determinar se esta foi responsável pela ocorrência ou interferiu na mesma, e o esclarecimento do seu papel quanto à administração deliberada ou acidental do tóxico e a sequência dos acontecimentos (Poklis, 1997; Karch, 2008; Negrusz e Cooper, 2013).

4.2.1. Importância da cadeia de custódia

A cadeia de custódia é uma série de procedimentos que se destinam a manter e verificar a devida integridade das amostras recolhidas que serão alvo de exames periciais, assegurando a sua identidade e inviolabilidade. Todas as amostras recolhidas são identificadas através do número do caso, nome do dador, data e hora da colheita, assinatura ou rúbrica do perito responsável pela colheita e descrição da amostra. Deste modo, quando as amostras chegam ao laboratório, procede-se à sua confirmação com base na requisição que as acompanha, verificando-se o número de identificação e o cumprimento das condições de colheita e remessa (Karch, 2008; Negrusz e Cooper, 2013).

4.2.2. Recolha, conservação e estabilidade de amostras para análise toxicológica

A seleção, colheita e armazenamento das amostras biológicas são das etapas mais importantes numa análise toxicológica. É de referir que durante o processo de seleção da amostra, o perito deve ter em conta outros fatores, tais como a estabilidade da(s) substância(s) a analisar, o tempo de deteção, o volume de amostra, a presença de interferências, a putrefação, entre outros, que podem condicionar a interpretação dos resultados (Negrusz e Cooper, 2013). De modo a selecionar a amostra apropriada, o toxicologista deve ter um profundo conhecimento do caso particular em estudo, do composto tóxico suspeito de envolvimento na morte e outras informações relevantes, como antecedentes da vítima (história social e médica), circunstâncias da morte (local e modo), observações no cenário (comprimidos, seringas e resíduos que estejam próximos da vítima), observações durante a autópsia, entre outros (Skopp, 2004).

As amostras devem ser recolhidas para recipientes separados e limpos para evitar possíveis contaminações. Os recipientes devem ter um tamanho adequado ao volume ou peso da amostra de modo a diminuir o espaço livre e, conseqüentemente reduzir as perdas por oxidação, volatilização ou precipitação de sais (que é comum na presença de conservantes). Em caso de amostras congeladas, deve-se garantir cerca de 20% de espaço livre nos recipientes utilizados (Skopp, 2010). O recurso a recipientes de plástico é evitado devido à contaminação com plastificantes, o que faz com que o vidro seja o material de eleição (Karch, 2008).

A conservação e armazenamento das amostras são etapas que podem igualmente comprometer a análise toxicológica qualitativa e quantitativa, se não forem realizadas de forma apropriada. Assim, as amostras devem ser conservadas a uma temperatura adequada (4°C - armazenamento a curto prazo para a maioria das amostras; $\leq -20^{\circ}\text{C}$ - armazenamento a longo prazo, por período superior a 2 semanas; 25°C - para amostras de cabelo, unhas e sangue seco), com o conservante apropriado e num local onde apenas o pessoal autorizado tenha acesso, garantindo a sua integridade e segurança (Karch, 2008). A adição de conservantes só se justifica em amostras de sangue e especialmente quando se pretende realizar testes para determinados analitos como a cocaína, álcool, monóxido de carbono ou ácido cianídrico. Nestes casos, adiciona-se fluoreto de sódio com uma concentração de 1 a 5% (m/v), que tem como finalidade retardar a hidrólise enzimática e, concomitantemente com o armazenamento a baixas temperaturas, diminuir a proliferação microbiana (Skopp, 2009).

A estabilidade das substâncias a analisar é outro parâmetro que pode ser influenciado por inúmeros fatores como as propriedades físico-químicas da droga, características da amostra recolhida, procedimento de colheita, seleção do recipiente (nomeadamente do tamanho), recurso a conservantes, entre outros (Negrusz e Cooper, 2013). A rápida degradação de certas drogas pode ser explicada pela instabilidade química, transformação metabólica ou combinação de ambos os mecanismos, como é o caso da cocaína. Em casos *post-mortem*, a degradação dos analitos encontra-se acelerada devido à putrefação do cadáver, invasão e proliferação microbiana (Skopp, 2004; Skopp, 2009).

4.2.3. Aspetos pré-analíticos na análise toxicológica *post-mortem*

A importância dos aspetos pré-analíticos reflete-se na qualidade e fiabilidade dos resultados analíticos obtidos, sendo estes dependentes do tipo e qualidade das amostras recolhidas. Alguns autores defendem que a maioria dos erros cometidos durante o processo analítico têm a sua origem na fase pré-analítica, que envolve o pedido e recolha das amostras biológicas, e subsequente registo, transporte, armazenamento e preparação das mesmas (Irjala e Grönroos, 1998; Skopp, 2004).

Existem várias amostras *post-mortem*, sendo, no entanto, a qualidade destas muito variável. Para além de garantir a cadeia de custódia, é preciso ter em consideração que as alterações autolíticas e os processos putrefativos limitam a utilidade das amostras, com

consequente degradação de compostos, formação de produtos durante a putrefação e conversão de metabolitos desmetilados no composto original. O conhecimento destes mecanismos de degradação permite recorrer a métodos que contribuam para a conservação das amostras e estabilidade dos analitos. Para além disto, procede-se à recolha de amostras quer habituais quer alternativas, bem como de informação sobre a via de exposição ao tóxico (Dinis-Oliveira *et al.*, 2010a).

4.2.3.1. Redistribuição *post-mortem*

A redistribuição *post-mortem* engloba um conjunto de fenómenos que ocorrem após a morte e que são responsáveis pelas variações da concentração do tóxico, não representando necessariamente a sua quantidade na altura da morte (Yarema e Becker, 2005). Sendo influenciado por vários fatores, como a morte e lise celular, putrefação, propriedades das substâncias, posição e movimento do corpo após a morte e a difusão dos compostos, este processo abrange a passagem dos compostos para o sangue a partir de órgãos sólidos (como o pulmão, o fígado e o coração) na vizinhança de grandes vasos e do coração, bem como a difusão passiva do conteúdo estomacal para órgãos vizinhos, nomeadamente o lobo esquerdo do fígado, o lobo esquerdo do pulmão e o ventrículo esquerdo do coração (Karch, 2008; Skopp, 2010).

Numa situação *post-mortem*, o organismo deixa de ter a capacidade de assegurar a integridade e estrutura das células, o que resulta em morte celular. Este processo implica uma série de alterações como a rutura celular, acidificação do meio, diminuição da produção de ATP, entre outros, iniciando-se o metabolismo anaeróbio, o que permite a difusão passiva dos compostos entre tecidos e órgãos. O próprio fluxo sanguíneo influencia a redistribuição em vários locais do organismo, uma vez que é dependente da gravidade. Deste modo, a difusão de compostos do estômago favorece a sua acumulação no lobo esquerdo do fígado. Em casos de refluxo gástrico e entrada no pulmão, verifica-se o aumento da concentração cardíaca, o que acontece em situações de transporte ou posição arqueada do cadáver (Karch, 2008).

Algumas propriedades, como o volume de distribuição, o pKa e o caráter lipofílico são determinantes na redistribuição *post-mortem* dos compostos. Portanto, aqueles que apresentam elevado volume de distribuição e que são sequestrados em órgãos reservatórios, como o coração, os pulmões e o fígado, têm alta probabilidade de sofrer

redistribuição, bem como os compostos que apresentem uma elevada relação de concentrações sangue cardíaco/periférico (como as anfetaminas e a digoxina). Constatou-se que compostos básicos e altamente lipofílicos que apresentem um volume de distribuição superior a 3 L/Kg sofrem redistribuição *post-mortem* (Logan *et al.*, 1997; Péliissier-Alicot *et al.*, 2003; Yarema e Becker, 2005).

Sabe-se hoje que a cocaína é alvo deste fenómeno de redistribuição, já que a sua concentração pode variar significativamente durante o intervalo de tempo entre a morte e a realização da autópsia e de acordo com o local de colheita das amostras (Logan *et al.*, 1997; Butzbach, 2010).

Como já foi referido, a cocaína é metabolizada pelas esterases plasmáticas e hepáticas formando-se a BZE e o EME. Contudo, os estudos realizados demonstraram que a concentração de BZE não é proporcional à taxa de metabolismo do composto pai, o que implica que a extrapolação de valores *ante-mortem* não seja consistente. A discrepância verificada na concentração de cocaína e BZE varia de acordo com a amostra recolhida (Hearn *et al.*, 1991; Logan *et al.*, 1997; Mackey-Bojack *et al.*, 2000). Vários estudos na literatura sugerem 3 fatores para explicar estas diferenças de concentração. Primeiro, o processo metabólico a que cocaína é sujeita durante o intervalo *post-mortem* altera a concentração do composto pai e seus metabolitos. Segundo, o carácter básico e o volume de distribuição elevado (entre 1 a 3 L/Kg) do composto pai possibilitam a acumulação da cocaína e seus metabolitos em tecidos (como o cardíaco), potenciando a sua libertação após a morte do indivíduo. E terceiro, os métodos de colheita e preservação da amostra influenciam a taxa de metabolismo a que cocaína é sujeita (Mackey-Bojack *et al.*, 2000; Drummer, 2004; Bertol *et al.*, 2008). A tabela 6 resume os principais mecanismos envolvidos na redistribuição *post-mortem*.

Tabela 6: Mecanismos de redistribuição *post-mortem* (adaptado de Pélissier-Alicot *et al.*, 2003).

MECANISMOS	CONSEQUÊNCIAS
Órgãos/tecidos reservatório	Redistribuição para tecidos vizinhos
Trato gastrointestinal	Cavidades cardíacas, veias torácicas, lobo esquerdo do pulmão, fígado, veia cava inferior
Pulmão	Cavidades cardíacas, veias torácicas, fígado
Coração	Sangue cardíaco
Fígado	Veia cava inferior, aurícula e ventrículo direitos, veias pulmonares, estômago, duodeno, vesícula biliar
Alterações no cadáver	
Morte e lise celular	Libertação de xenobióticos para o meio extracelular
Coagulação sanguínea	Modificação da relação plasma/sangue
Fluxo sanguíneo	Transporte de xenobióticos e mistura de sangue de diferentes origens
Putrefação	Degradação e/ou síntese de compostos
Propriedades químicas e farmacocinéticas dos compostos	
Propriedades ácido/base	Ionização (rápida distribuição)
Caráter lipofílico	Acumulação em órgãos sólidos (gradiente de concentração)
Volume de distribuição	Libertação dos tecidos
Atividade metabólica residual	Formação e/ou degradação de produtos

4.2.3.2. Estabilidade química e metabólica

É de notar que muitas substâncias são instáveis nos fluídos biológicos, sendo a cocaína um dos exemplos mais notórios. Para além de ser instável em soluções aquosas, sofre hidrólise enzimática e química quando presente no sangue ou plasma, formando-se produtos hidrolíticos. Para além disto, a cocaína é degradada a temperaturas elevadas e em meio alcalino, o que implica certos cuidados no manuseamento das amostras de sangue, como a adição de fluoreto de sódio (inibe a hidrólise enzimática), ajuste do pH (recorrendo ao ácido ascórbico, obtendo-se valores de pH próximos de 5) e a refrigeração das amostras a 4°C (Hippenstiel e Gerson, 1994; Klingmann *et al.*, 2001; Negrusz e Cooper, 2013).

4.2.4. Amostras biológicas

A correta seleção e colheita das amostras é de extrema importância em análises toxicológicas de modo a alcançar resultados fidedignos e precisos e subsequente interpretação científica. Na maioria dos casos, o perito depara-se com uma grande variedade de amostras. No entanto, a seleção das amostras deve ser ponderada de acordo

com o conhecimento completo do caso e disponibilidade da amostra no cadáver (Pellegrini *et al.*, 2006; Skopp, 2009).

Numa análise *post-mortem* recorre-se preferencialmente ao sangue periférico, urina, bÍlis, conteúdo gástrico, tecidos ou Órgãos (como rim, baço, coração, entre outros) e cabelo. O composto a ser pesquisado depende do tipo de amostra recolhida, ou seja, em amostras de sangue, saliva ou cabelo pesquisa-se o composto pai (cocaína), enquanto na urina pesquisa-se os metabolitos, como a BZE e o EME (Drummer, 2004; Karch, 2008). Após a identificação do agente tÓxico, procede-se à sua quantificação no organismo na altura da morte ou na altura em que a amostra foi recolhida no vivo (Klaassen, 2008).

4.2.4.1. Amostras habituais

4.2.4.1.1. Sangue

O sangue é a matriz de eleição para pesquisa, quantificação e interpretação das concentrações dos compostos suspeitos de serem a causa de morte do indivíduo. A cocaína apresenta um período de deteção no sangue de 4 a 12 horas, dependente da dosagem consumida (Verstraete, 2004). Devido ao fenómeno de redistribuição *post-mortem*, procede-se preferencialmente à recolha de sangue periférico na veia femoral, devido à presença de válvulas que impedem o movimento do sangue a partir dos intestinos. Em muitas situações, a veia femoral é previamente clampada evitando assim a contaminação com sangue proveniente da zona abdominal onde o fenómeno de redistribuição é mais notório. De fato, o sangue cardíaco é vulnerável à redistribuição *post-mortem*, apresentando valores de cocaína mais elevados, o que não reflete a sua quantidade na altura da morte (Skopp, 2004; Skopp, 2010).

4.2.4.1.2. Cérebro

Após a morte, a cocaína é rapidamente metabolizada no sangue e no fígado, mas continua a ser detetável no cérebro e músculo por algum tempo, sugerindo que estas são as amostras mais fidedignas para análises *post-mortem* (Lowe *et al.*, 2006). Esta droga atravessa facilmente a barreira hemato-encefálica, apresentando-se estabilizada em meio lipídico, ao contrário da BZE, devido à sua elevada polaridade. Assim, admite-se que as concentrações obtidas nesta amostra são as mais próximas da altura da morte do

indivíduo, uma vez que o cérebro é um compartimento isolado, com pouca atividade enzimática, para além de que toda a BZE presente é produzida *in loco* (Karch, 2009; Carvalho *et al.*, 2013). O tecido cerebral pode ainda fornecer informações relativas ao tipo de consumo (agudo ou crónico), permitindo interpretar de forma mais precisa a morte do indivíduo. Assim, elevadas concentrações de cocaína e baixas concentrações ou ausência de metabolitos indica uso recente da droga, enquanto a presença de BZE e ausência do composto pai sugere uso crónico (Stephens *et al.*, 2004; Bertol *et al.*, 2008).

4.2.4.1.3. Urina

Devido à sua constituição rica em água (aproximadamente 98%), a urina facilita a identificação dos tóxicos (por acumulação de grandes concentrações de drogas e respetivos metabolitos), fornecendo informação relativa à exposição *ante-mortem* da droga. Assim, é considerada uma matriz útil para orientar os testes de rastreio realizados no sangue, aplicando-se métodos de triagem (imunoensaios), razão pela qual é frequentemente usada no *screening* de agentes tóxicos (Karch, 2008; Cone *et al.*, 2008). Devido ao processo de filtração renal, esta amostra é desprovida de proteínas, lípidos e outras moléculas de elevado peso molecular, o que simplifica a fase de preparação da amostra. Contudo, apresenta alguns inconvenientes como a falta de correlação entre a concentração detetada e os efeitos farmacológicos/tóxicos, bem como em casos de morte rápida, a pesquisa na urina pode ser negativa (Stephens *et al.*, 2004). Esta matriz é usada para a pesquisa dos metabolitos da cocaína (BZE e EME), principalmente quando o composto pai não é detetável no sangue. Usando valores de *cut-off* de 300 ng/ml, o tempo de deteção varia entre 1 e 4 dias, apesar de em indivíduos consumidores crónicos o tempo de pesquisa ser de 22 dias (Drummer, 2004; Verstraete, 2004).

4.2.4.1.4. BÍlis

Sendo recolhida a partir da vesícula biliar, a bílis é considerada uma amostra de grande interesse por ser um local de acumulação de compostos que sofram excreção biliar (como a cocaína e metabolitos, morfina e metadona) e circulação entero-hepática. Assim, revela-se uma matriz de grande importância em casos de ausência de urina e situações onde a droga não é detetável no sangue. Vários estudos indicam que a cocaína e os seus

principais metabolitos (como a BZE, o cocaetileno e o EME) tendem a acumular-se na biliar em concentrações de 3 a 6 vezes superiores às sanguíneas (Agarwal e Lemos, 1996; Vanbinst *et al.*, 2002).

4.2.4.1.5. Conteúdo gástrico

Numa suspeita de intoxicação *per os*, o conteúdo gástrico permite detetar o tóxico ingerido em quantidades elevadas. A simples observação macroscópica e organoléptica desta matriz fornece orientações que ajudam no processo analítico, como os cheiros e colorações que podem ser associados a determinados compostos, bem como a presença de cápsulas ou comprimidos, que devem ser rapidamente separados, secos e acondicionados em recipientes bem fechados e isentos de humidade, tendo uma importância relevante em casos de *body packers*. A deteção de grandes concentrações do composto pai no conteúdo estomacal apenas é indicativo de overdose quando suportado por dados obtidos no sangue e/ou em tecidos. Contudo, a deteção de baixas concentrações no estômago pode representar a difusão passiva do composto a partir do sangue (Sheaff e Hopster, 2005; Karch, 2007).

4.2.4.1.6. Humor vítreo

O humor vítreo encontra-se numa zona anatomicamente isolada, com baixo conteúdo em proteínas e enzimas, sendo menos propícia a contaminações bacterianas e por isso mais resistente à putrefação (Fucci *et al.*, 2006). É uma matriz de características aquosas e transparente. Deste modo, compostos ligados extensivamente a proteínas ou lipofílicos exibem baixas concentrações nesta amostra face ao sangue. Esta matriz pode revelar-se muito importante em situações de putrefação avançada do cadáver e quando não é possível obter sangue em quantidade suficiente (Skopp, 2004; Karch, 2007).

Um inconveniente do humor vítreo é não representar exatamente as concentrações plasmáticas, tendo já sido reportados casos em que se verificou um aumento da concentração *post-mortem* de cocaína nesta matriz, associado à libertação da droga a partir do tecido ocular e cerebral (McKinney *et al.*, 1995). Contudo, alguns autores sugerem que o humor vítreo apresenta grande utilidade na identificação do consumo de

cocaína, devido à forte correlação de concentração verificada entre esta matriz e o sangue (Duer *et al.*, 2006; Levine e Jufer, 2008).

4.2.4.2. Amostras alternativas

4.2.4.2.1. Tecidos Queratinizados

Os tecidos queratinizados, como a pele, as unhas e o cabelo, são conhecidos por reterem drogas e metais pesados durante longos períodos de tempo, tornando-se úteis na determinação do histórico de exposição à cocaína. Para além da facilidade da amostragem, não requerem condições especiais de armazenamento, o que promove a estabilidade dos analitos (Bulcão *et al.*, 2012). Uma outra vantagem destas matrizes é a grande janela de deteção (3 dias a meses/anos) quando comparadas a amostras habituais como o sangue e a urina, cujo período de deteção se situa entre 2 a 4 dias (figura 10). Desta forma, permitem a obtenção de informação retrospectiva da exposição crónica a determinados tóxicos (Boumba *et al.*, 2006).

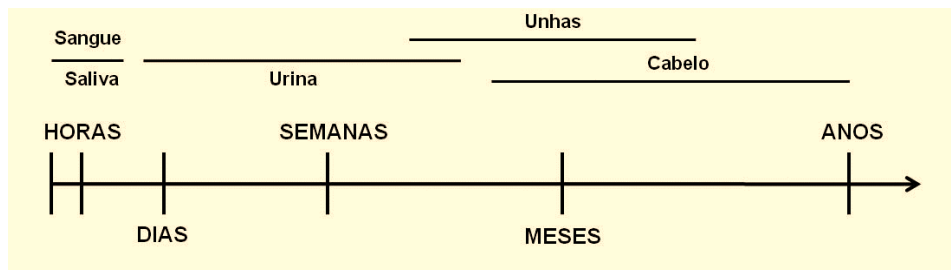


Figura 10: Representação esquemática do tempo de deteção da maioria das drogas nas principais matrizes (Fonte: Bulcão *et al.*, 2012).

O recurso a amostras de cabelo para a deteção da cocaína relaciona-se com análises toxicológicas bastante sensíveis e específicas para a identificação do histórico de consumo, mesmo quando se obtém resultados negativos em amostras de urina, o que se explica através da discrepância do período de deteção entre matrizes. A administração IV de dose única de cocaína (25-35 mg) é detetável no cabelo durante um período de tempo que pode variar entre 2 a 6 meses, enquanto na urina a droga só é detetável entre a 2 a 3 dias após o consumo (Musshoff *et al.*, 2006). Contudo, a suscetibilidade do cabelo à contaminação, através do consumo de *crack*, deve ser considerada o que obriga a uma lavagem prévia da amostra durante a sua preparação para análise. Deste modo, um resultado positivo deve obedecer aos critérios estabelecidos pela *Substance Abuse and*

Mental Health Service Administration (SAMHSA), ou seja, a obtenção de uma concentração de cocaína superior ou igual a 500 pg/mg e uma razão entre a cocaína e BZE superior ou igual a 0,05, devido à probabilidade da etapa de lavagem não ser completamente eficaz (SAMHSA, 2004).

A análise segmentar do cabelo permite a obtenção do histórico de exposição mais preciso, uma vez que a distribuição dos xenobióticos ao longo do fio de cabelo não é uniforme, já que esta se encontra condicionada pelos distintos graus de exposição ao longo das várias fases de crescimento do cabelo (Baysal e Akman, 2010). Atualmente, esta matriz tem-se tornado uma amostra biológica fundamental na pesquisa de drogas, no âmbito da Toxicologia Forense e Clínica. Pelo fato da sua adulteração ser mais difícil, quando comparada à urina, o cabelo tem sido extensivamente estudado para aplicação na fiscalização rodoviária (Polla *et al.*, 2009; Bortolotti *et al.*, 2012).

4.2.4.2.2. Saliva

A saliva apresenta vantagens similares ao cabelo, tais como a facilidade de colheita da amostra, através de um método não invasivo, e dificuldade de adulteração, face à urina. Deste modo, tal como o cabelo, é uma matriz amplamente estudada para aplicação na fiscalização rodoviária, apresentando uma boa correlação com o sangue (Verstraete, 2005). A passagem das drogas para a saliva ocorre por difusão passiva, dependendo do pH do fluído oral e do sangue, da percentagem de ligação da droga às proteínas plasmáticas e do pKa (Bortolotti *et al.*, 2012).

A administração de cocaína por via inalatória (fumada) e intranasal (snifada) contamina a cavidade oral, o que resulta em concentrações iniciais elevadas de cocaína na saliva quando comparada com as concentrações obtidas após a administração IV (Pujadas *et al.*, 2007; Bosker e Huestis, 2009). Por conseguinte, após a administração de uma dose única, esta droga permanece detetável no fluído oral por 5 a 12 horas, enquanto em casos de consumo crónico esse período de deteção aumenta para 10 dias (Verstraete, 2004). A análise da saliva pode ser pormenorizada quanto ao padrão de consumo devido à presença de biomarcadores, como os metabolitos AEME e cocaetileno (Cone e Huestis, 2007).

4.2.4.2.3. Suor

O suor também se apresenta como uma matriz recorrente para a monitorização da exposição a drogas de abuso durante o tratamento, no âmbito da justiça criminal e pré-requisito de emprego (Samyn *et al.*, 2002). A passagem das drogas para o suor ocorre por difusão passiva a partir dos capilares sanguíneos e por difusão através das camadas superficiais da pele (epiderme e derme) (Levisky *et al.*, 2000; Bortolotti *et al.*, 2012). A cocaína é o principal analito pesquisado no suor, no entanto também é possível detetar a BZE e o EME. A partir de estudos em humanos, verificou-se que a cocaína e o EME permanecem detetáveis durante 2 horas após a administração subcutânea, enquanto a BZE apenas se torna detetável 4 a 8 horas após a sua administração (Kacinko *et al.*, 2005).

4.2.5. Métodos de análise de cocaína em amostras biológicas

As técnicas adotadas na pesquisa toxicológica devem ser simples e inequívocas de modo a obter resultados fidedignos, que contribuam para a confirmação da substância. Contudo, a escolha do método analítico depende de alguns critérios como a sensibilidade, aplicabilidade, disponibilidade em laboratório, custo, precisão e exatidão (da Costa *et al.*, 2010).

Uma análise toxicológica requer testes de rastreio, que incluem técnicas de fácil execução e rápidas, altamente sensíveis embora menos específicas, no sentido de separar as amostras negativas das potencialmente positivas, e técnicas de confirmação, altamente específicas, fundamentadas num princípio de deteção distinto (Limberger *et al.*, 2008). Deste modo, um resultado positivo deve ter por base a concordância dos 2 métodos utilizados, de acordo com critérios pré-determinados e internacionalmente aceites (Aiello e Peçanha, 2012). A figura 11 resume as fases fundamentais da pesquisa toxicológica.

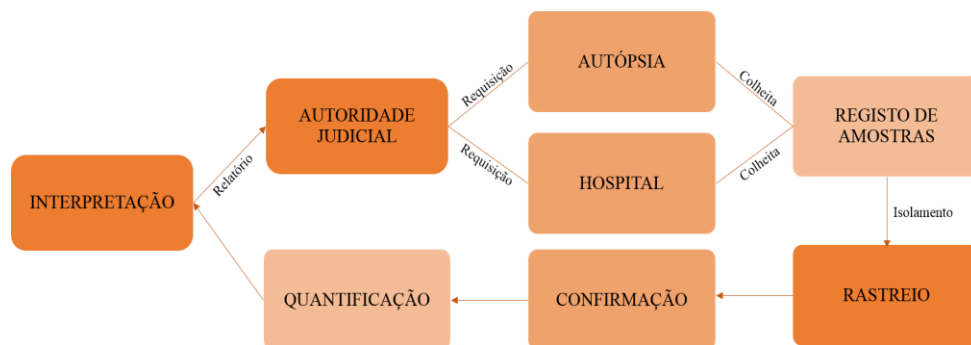


Figura 11: Sequência de procedimentos adotados numa pesquisa toxicológica (adaptado de Rangel, 2003).

4.2.5.1. Métodos diretos de análise

Estes métodos englobam os imunoensaios que são técnicas fundamentadas na capacidade de reconhecimento e ligação específica dos anticorpos a determinados compostos, com base na interação com a sua estrutura molecular (Karch, 2008). São comumente utilizados nos testes de rastreio por possuírem um largo espectro de deteção, sensibilidade, rapidez de resposta, facilidade de utilização e pelo fato das amostras poderem ser analisadas diretamente sem necessidade de extração prévia (Isenschmid, 2010).

Os imunoensaios são comercializados na forma de kits, destacando-se os radioimunoensaios (*Radioimmunoassay*, RIA), os imunoensaios de fluorescência polarizada (*Fluorescence Polarization Immunoassay*, FPIA) e os ensaios imunoenzimáticos (*Enzyme Immunoassay*, EIA). Estes dependem do tipo de marcador utilizado (radioisótopo, composto fluorescente, enzima ou outras substâncias que possam ser detetadas por métodos instrumentais), que são substâncias capazes de se ligarem quimicamente ao antigénio ou anticorpo, no sentido de ampliar a sensibilidade dos imunoensaios. Deste modo, os testes de rastreio baseiam-se numa interação competitiva entre a droga presente na amostra e o seu análogo, conjugado com um marcador, pelos locais de ligação no anticorpo específico para o xenobiótico a ser pesquisado. A presença da droga é indicada pela alteração na radioatividade, fluorescência ou taxa de reação enzimática (Smith, 2005).

Vários kits de imunoensaios têm sido comercializados para detetar a cocaína, apresentando diferenças em termos de sensibilidade, técnica usada para identificação e anticorpos. Contudo, a maioria dos imunoensaios são direcionados para a pesquisa do principal metabolito da cocaína, BZE, por requererem amostras de urina (Drummer, 2010).

A obtenção de um resultado negativo para a pesquisa de determinado xenobiótico, e no caso de todos os procedimentos terem sido executados de forma correta, não necessita da realização das técnicas de confirmação (Cooper, 2011). No entanto, este tipo de testes não permite a confirmação de um resultado positivo, pelo que se deve recorrer a métodos mais específicos e sofisticados (Cooper *et al.*, 2012).

4.2.5.2. Técnicas de confirmação

4.2.5.2.1. Preparação da amostra

As técnicas de confirmação englobam os métodos cromatográficos, que obrigam a uma preparação prévia da amostra, uma vez que as amostras biológicas caracterizam-se pela sua complexidade, não podendo ser diretamente analisadas. A presença de elevadas concentrações de proteínas, lípidos e outras macromoléculas afetam a eficácia destes métodos, o que justifica os procedimentos iniciais de extração com o intuito de isolar e concentrar os analitos num solvente que seja compatível com os processos analíticos empregues (Barroso *et al.*, 2009).

Em geral, os analitos de interesse são extraídos das amostras biológicas recorrendo à extração líquido-líquido convencional ou em fase sólida (SPE). Contudo, procedimentos envolvendo técnicas de microextração em fase sólida (SPME) ou com fluídos supercríticos também são descritos na literatura (Allen e Oliver, 2000; Álvarez *et al.*, 2007; Barroso *et al.*, 2009).

A extração líquido-líquido consiste na extração do analito recorrendo ao uso de solventes orgânicos, como o hexano e o acetato de etilo ou combinações de solventes como diclorometano:isopropanolol:acetato de etilo (1:1:3) e clorofórmio:2-propanolol (3:1). A fase aquosa é tamponada para assegurar que o analito não se encontra na sua forma ionizada. O solvente é em seguida evaporado, obtendo-se um resíduo seco, o qual é reconstituído com um solvente apropriado para análise cromatográfica (Moffat *et al.*, 2011).

A extração em fase sólida consiste na adsorção seletiva do analito para um suporte sólido. O excesso de fluído onde se encontra o analito é removido através de uma lavagem e as substâncias retidas são eluídas com um solvente apropriado (Drummer, 2010). Esta técnica apresenta algumas vantagens face à anterior como a facilidade de uso, seletividade, redução no uso de solventes orgânicos e boa recuperação dos analitos, o que permite obter uma maior eficácia de extração (Shakleya e Huestis, 2009).

Como já referido anteriormente, durante a etapa da preparação da amostra, é importante adotar procedimentos que contribuam para a estabilização da cocaína e seus metabolitos, como a refrigeração das amostras a temperaturas de 4°C, acidificação e adição de inibidores enzimáticos (Brogan *et al.*, 1992; Isenschmid, 2010; Jones e Holmgren, 2013).

4.2.5.2.2. Cromatografia em camada fina (TLC)

A cromatografia é uma metodologia de separação muito comum e versátil, caracterizada pela dinâmica que envolve a interação entre 2 fases imiscíveis. É uma técnica que se baseia nas diferenças de distribuição dos componentes, de acordo com as velocidades às quais são transportados pela fase móvel através da fase estacionária. Hoje em dia, a cromatografia em camada fina (TLC) é muito usada em análises toxicológicas devido à facilidade de preparação da amostra e aos baixos custos associados (Karch, 2008).

A fase estacionária é constituída por uma fina camada de um composto adsorvente, normalmente a sílica gel, aplicada em cima de um material rígido e inerte (como uma folha de alumínio ou placa de vidro), enquanto a fase móvel consiste numa mistura de solventes orgânicos (como por exemplo a mistura de acetato de etilo, metanol e amónia a 30% ou a mistura de tolueno, acetona, etanol e amónia a 25%). A separação dos compostos ocorre na interface das 2 fases, dependendo do movimento relativo dos solutos, e por capilaridade da fase móvel. Assim, aqueles que interagirem mais fortemente com o suporte tendem a mover-se mais lentamente, ao contrário dos compostos cuja interação é mais fraca (Mendham *et al.*, 2002; Moffat *et al.*, 2011).

Após o processo de eluição, deve-se proceder à secagem da placa. A visualização das manchas de cocaína é feita recorrendo ao reagente de *Dragendorff's* em combinação com o iodoplatinato de potássio. Inicialmente as manchas de cocaína coram de laranja e após a pulverização da placa com o iodoplatinato tornam-se mais escuras, dependendo da quantidade de cocaína presente na amostra. Caso se justifique, é possível recorrer à revelação por luz ultravioleta (Smith, 2005).

4.2.5.2.3. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS)

A GC-MS consiste numa combinação sinérgica de duas técnicas analíticas, a cromatografia gasosa e a espectrometria de massa. Esta associação justifica-se pelas suas vantagens, pois permite não só a identificação de compostos bem como o aumento da sensibilidade dos detetores convencionais. Assim, através do método cromatográfico os compostos são separados ao mesmo tempo que o espectrómetro de massa providencia informação estrutural de cada composto, auxiliando o processo de identificação (Kitson *et al.*, 1996; Mendham *et al.*, 2002). A necessidade de alto vácuo no interior do

espectrómetro é compatível com as características de funcionamento do cromatógrafo gasoso, o que torna esta combinação relativamente fácil (Chiaradia *et al.*, 2008).

A cromatografia gasosa baseia-se na volatilização da amostra após esta ser introduzida no seu injetor. Desta forma, implica que o analito seja estável a elevadas temperaturas e apresente volatilidade razoável. De seguida, a amostra volatilizada é arrastada pela fase móvel (gás inerte, como o hélio ou o hidrogénio) através da fase estacionária (coluna). A separação depende da interação diferencial entre a fase móvel e a fase estacionária. Assim, os analitos são separados de acordo com a sua polaridade e volatilidade, o que determina os seus tempos de retenção. A interface entre a cromatografia gasosa e a espectrometria de massa ocorre após a separação dos compostos, quando estes são transferidos para o analisador de massas, onde inicialmente sofrem ionização (Kitson *et al.*, 1996; Pragst e Balikova, 2006). Após ionização da amostra, os iões são separados de acordo com a relação massa/carga (m/z). Por último, o detetor tem como função a transformação da corrente dos iões em sinais elétricos, que são processados informaticamente, permitindo o desenvolvimento do espectro de massa (Mendham *et al.*, 2002).

4.2.5.2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (HPLC-MS)

A HPLC-MS tem por base o mesmo princípio de funcionamento que a GC-MS, sendo que a principal diferença reside na fase móvel que, neste caso, é um líquido enquanto na GC-MS é um gás. Deste modo, esta técnica não se encontra limitada a amostras voláteis e termicamente estáveis. Apresenta outras vantagens quando comparada com a GC-MS como a maior flexibilidade de otimização das condições adequadas e maior amplitude de escolha das fases móvel e estacionária (Ardrey, 2003). Considera-se uma análise mais rápida e económica, uma vez que não necessita de procedimentos de derivatização para aumentar a sensibilidade do método, como acontece com a GC-MS para alguns compostos que contenham grupos amina livres, grupos hidroxilo ou carboxilo (Pragst e Balikova, 2006; Cruces-Blanco e García-Campaña, 2012).

A tabela 7 reúne um conjunto de artigos que recorre aos diversos métodos bioanalíticos para determinação da cocaína e seus metabolitos em várias matrizes biológicas.

Tabela 7: Métodos de deteção empregues na análise de cocaína em diversas matrizes biológicas (adaptado de Barroso *et al.*, 2009).

MATRIZ BIOLÓGICA	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	MÉTODO ANALÍTICO	LIMITE DE DETEÇÃO	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADOS	TIPO DE ESTUDO	REFERÊNCIA
PLASMA	Microextração de fase sólida	GC-MS	19 ng/ml (COC) 11 ng/ml (COET)	25 ng/ml (COC; COET)	166,8 ng/ml (COC) 96,53 ng/ml (COET)	Intoxicação não fatal	(Ávarez <i>et al.</i> , 2007)
SANGUE	Extração de fase sólida	LC-MS	0,5 ng/ml (COC, BZE)	2,0 ng/ml (COC, BZE)	55,1 ng/ml (COC) 605,6 ng/ml (BZE)	Intoxicação fatal	(Concheiro <i>et al.</i> , 2006)
URINA	Extração de fase sólida	ELISA/GC-MS	-	40 ng/ml (COC, BZE)	18322 ng/ml (BZE)	Intoxicação não fatal	(Cone <i>et al.</i> , 2008)
CABELO	Microextração de fase sólida	GC-MS	0,08 ng/mg (COC) 0,02 ng/mg (COET)	0,4 ng/mg (COC, COET)	5,39 ng/mg (COC) 1,11 ng/mg (COET)	Intoxicação não fatal	(Bernardo <i>et al.</i> , 2006)
SALIVA	Extração de fase sólida	GC-MS	1,4 ng/ml (COC) 2,6 ng/ml (BZE) 4,2 ng/ml (EME) 2,4 ng/ml (COET)	4,1 ng/ml (COC) 8,0 ng/ml (BZE) 12,7 ng/ml (EME) 7,2 ng/ml (COET)	939,3 ng/ml (COC) 2453,5 ng/ml (BZE) 665,9 ng/ml (EME) 201 ng/ml (COET)	Intoxicação não fatal	(Pijadas <i>et al.</i> , 2007)
SUOR	Extração de fase sólida	GC-MS	3,0 ng amostra (COC, EME, AEME) 1,0 ng amostra (BZE)	2,5 ng amostra (BZE) 5,0 ng amostra (COC, EME, AEME)	354 ng amostra (COC) 14 ng amostra (BZE)	Intoxicação não fatal	(Samyn <i>et al.</i> , 2002)
MECÓNIO	Extração de fase sólida	LC-MS	0,9 ng/g (COC) 1,2 ng/g (BZE, COET)	3,0 ng/g (COC) 4,0 ng/g (BZE, COET)	617,7 ng/g (COC) 502,7 ng/g (BZE) 33 ng/g (COET)	Intoxicação não fatal	(Péchin <i>et al.</i> , 2003)
HUMOR VÍTREO	Extração líquido-líquido	GC-MS	5,0 ng/ml (COC, BZE)	20 ng/ml (COC, BZE)	1275 ng/ml (COC) 192,2 ng/ml (BZE)	Intoxicação fatal	(Fucci <i>et al.</i> , 2006)
UNHAS	Extração líquido-líquido	GC-MS	0,10 ng/mg (AEME) 0,50 ng/mg (EME) 0,050 ng/mg (COC) 0,050 ng/mg (COET) 0,15 ng/mg (BZE)	-	31,6 ng/mg (COC) 12,6 ng/mg (BZE) 4,4 ng/mg (EME) 0,32 ng/mg (AEME)	Intoxicação não fatal	(Ragnony-Sengler e Kintz, 2005)
PELE	Extração líquido-líquido	GC-MS	-	-	302,7 ng/g (COC) 188 ng/g (COET)	Intoxicação fatal	(Levisky <i>et al.</i> , 2000)
MÚSCULO	Extração de fase sólida	GC-MS	0,78 ng/ml (COC, BZE, COET, AEME, EEE) 1,56 ng/ml (EME)	0,78 ng/ml ml (COC, BZE, COET, AEME, EEE) 1,56 ng/ml (EME)	33,8 ng/ml (COC) 526,6 ng/ml (BZE) 81,4 ng/ml (EME) 21,5 ng/ml (COET) 46 ng/ml (EEE) 72,8 ng/ml (AEME)	Intoxicação fatal	(Levis <i>et al.</i> , 2003)
DENTES	Extração líquido-líquido	GC-MS	2,5 ng/g (COC, BZE, COET)	7,5 ng/g (COC, BZE, COET)	26,3 ng/g (COC) 35,0 ng/g (BZE) 10 ng/g (COET)	Intoxicação não fatal	(Pellegriani <i>et al.</i> , 2006)
CÉREBRO	Extração de fase sólida	GC-MS	50 ng/g (COC, BZE, COET, EEE, EME)	50 ng/g (COC, BZE, COET, EEE, EME)	1957 ng/g (BZE) 617 ng/g (EME)	Intoxicação fatal	(Love <i>et al.</i> , 2006)

AEME: Éster Metílico de Anidroecgonina; BZE: Benzoilecgonina; COC: Cocaína; COET: Cocaetileno; EEE: Éster Etilico de Ecgonina; EME: Éster Metílico de Ecgonina

4.2.5.3. Valores de *cut-off*

Durante o processo de validação dos métodos analíticos são determinados os valores de *cut-off*. Contudo, estes também podem ser estabelecidos por sociedades científicas, como a SAMHSA. Os valores de *cut-off* são considerados dados de extrema importância para a análise dos resultados toxicológicos, já que permite a comparação de valores bem como a determinação do resultado positivo (se o valor obtido for superior ao valor de *cut-off*) ou negativo (se o valor obtido for inferior ao valor de *cut-off*) (Tsanaclis *et al.*, 2011; Moffat *et al.*, 2011). A tabela 8 apresenta os valores de *cut-off* para a cocaína, estabelecidos pela SAMHSA, para os testes de rastreio e técnicas de confirmação.

Tabela 8: Valores de *cut-off* estabelecidos para a cocaína nas várias matrizes biológicas (adaptado de SAMHSA, 2004).

MATRIZ BIOLÓGICA	SUBSTÂNCIA	VALORES DE <i>CUT-OFF</i>	
		TESTE DE RASTREIO	TÉCNICA DE CONFIRMAÇÃO
Cabelo	COC	500 pg/mg	500 pg/mg
	BZE; NCOC; COET	500 pg/mg	50 pg/mg
Saliva	COC; BZE	20 ng/ml	8 ng/ml
Suor	COC; BZE	25 ng/amostra	25 ng/amostra
Urina	COC; BZE	150 ng/ml	100 ng/ml

BZE: Benzoilecgonina; COC: Cocaína; COET: Cocaetileno; NCOC: Norcocaína

4.2.6. Interpretação de análises

A intoxicação como causa da morte é geralmente atribuída quando uma substância é detetada numa quantidade suscetível de provocar efeitos, excluída qualquer outra causa e tendo em conta as circunstâncias da morte.

São descritos seguidamente alguns casos representativos da relevância da cocaína nas várias áreas de atuação da Toxicologia Forense.

Caso #1

Homem com 45 anos, seropositivo e com antecedentes de consumo de drogas foi encontrado morto em casa. As declarações dos familiares da vítima permitiram orientar

a pesquisa toxicológica, visto alegarem o consumo de cocaína injetável pelo indivíduo na noite da morte. O exame do hábito externo revelou a presença de múltiplos locais de venopunção enquanto no exame do hábito interno não se detetou lesões de relevância. A análise da seringa encontrada perto do corpo permitiu a deteção de uma concentração de 906 mg/L de cocaína.

Com a análise toxicológica de sangue periférico obteve-se as seguintes concentrações: 5,0 mg/L de cocaína; 10,4 mg/L de BZE; 4,1 mg/L de éster metílico de ecgonina; 0,15 mg/L de fluoxetina; 0,1 µg/L de buprenorfina e 8,2 µg/L de Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC). Com a análise da urina detetou-se o metabolito AEME numa concentração de 0,65 mg/L. Procedeu-se à análise de outras amostras alternativas como o tecido cerebral (obtendo-se os seguintes valores: 21,2 mg/Kg de cocaína; 3,8 mg/Kg de BZE; 3,3 mg/Kg de éster metílico de ecgonina e 13,5 µg/Kg de THC) e o cabelo (160 ng/mg de cocaína).

Os resultados toxicológicos sugerem que a morte do indivíduo ocorreu devido a uma overdose por cocaína, já que as concentrações obtidas do composto pai e dos metabolitos são tóxicas e fatais para o organismo. A deteção do metabolito AEME na urina sugere o consumo recente de cocaína por via inalatória. A determinação da concentração da fluoxetina, buprenorfina e THC indica que estas substâncias encontram-se dentro do intervalo terapêutico (fluoxetina: 160-500 µg/L; buprenorfina: 0,5-5 µg/L e THC: 5-10 µg/L (Schulz e Schmoldt, 2003)). Contudo, os efeitos cardiotoxicos da cocaína podem ter sido potenciados pela fluoxetina e THC (Giroud *et al.*, 2004).

Caso #2

Homem com 54 anos, caucasiano, foi sujeito a um procedimento cirúrgico, por volta das 9h00, após ter sofrido uma fratura nasal resultante de um confronto físico. Teve alta hospitalar no mesmo dia, tendo-lhe sido prescrito o analgésico Percocet® (5 mg de oxicodona/325 mg acetaminofeno). Foi encontrado inconsciente pela mulher por volta das 20h00. Apesar das medidas de suporte básico de vida realizadas, o homem não reagiu e foi declarado o óbito.

A declaração da mulher da vítima permitiu concluir que o indivíduo tinha tomado um comprimido do analgésico receitado, por volta das 16h00. A história clínica da vítima revelava que era um doente diabético (tipo II), hipertenso e com evidências de

hipercolesterolemia, sem histórico de consumo de drogas. A autópsia permitiu a observação de lesões ateroscleróticas severas a nível cardíaco, fraturas ósseas a nível nasal e do maxilar e alguns hematomas. A análise toxicológica da urina permitiu a determinação dos seguintes valores de concentrações: 48 ng/ml de cocaína, 482 ng/ml de BZE e 190 ng/ml do éster metílico de ecgonina. Na amostra de sangue apenas se detetou oxicodona, 73 ng/ml, diazepam e nordiazepam, ambos numa concentração de 103 ng/ml.

Após a obtenção dos resultados da amostra de urina, foi proposto que a vítima teria consumido cocaína antes da morte. Contudo, após análise dos registos clínicos, da autópsia e da cena do crime, a presença de cocaína e dos seus metabolitos foi justificada pela administração clínica durante a cirurgia nasal. A análise ao sangue permite concluir que as concentrações obtidas de diazepam e nordiazepam encontram-se dentro do intervalo terapêutico (200-2000 ng/ml e 20-4000 ng/ml, respetivamente (Schulz e Schmoldt, 2003)). Apesar da concentração de oxicodona se encontrar ligeiramente acima do intervalo terapêutico (20-50 ng/ml (Schulz e Schmoldt, 2003)) ainda não ultrapassa o limite tóxico (> 200 ng/ml (Schulz e Schmoldt, 2003)) e, por isso, considerou-se uma morte natural sendo a causa atribuída à doença aterosclerótica (Bailey *et al.*, 2009).

Caso #3

Homem com 23 anos, com antecedentes de epilepsia e consumo de drogas por via inalatória, deu entrada no hospital em estado inconsciente. Após ter negado o consumo de drogas durante o mês anterior, teve alta, sendo medicado com valproato de sódio. Vinte e quatro horas depois, voltou a ser admitido no hospital como consequência de uma paragem cardiorrespiratória e hipertermia. Verificou-se a evacuação de pequenos pacotes em conjunto com as fezes, revelando a presença de cocaína. Devido à toxicidade aguda da droga, o sujeito acabou por morrer.

Durante a autópsia, o exame do hábito externo descartou a hipótese de trauma, enquanto o exame do hábito interno revelou a presença de 56 pacotes intactos e 1 danificado no estômago. Com a análise toxicológica da urina confirmou-se a presença de cocaína e dos metabolitos BZE e EME. As análises sanguíneas possibilitaram a quantificação da cocaína e BZE, obtendo-se, para ambos, uma concentração de 1,04 mg/L.

A história clínica de epilepsia do indivíduo não permitiu a realização de um diagnóstico correto durante a entrada de emergência no hospital, o que seria essencial para a aplicação da terapia adequada, prevenindo a intoxicação fatal. Com as análises toxicológicas foi possível determinar a causa da morte, não só pela identificação de cocaína nos pacotes evacuados mas também pelo fato da concentração obtida, de composto pai e metabolitos, ser superior ao limite fatal, estabelecendo-se como causa de morte a síndrome do *body packer* (Dinis-Oliveira *et al.*, 2009).

Caso #4

Mulher com 26 anos, grávida de 32 semanas foi detida no aeroporto por suspeita de tráfico de droga. Durante a interrogação a suspeita admitiu ter engolido alguns pacotes de cocaína, tendo sido de imediato transportada para o hospital mais próximo. A equipa médica optou pela administração inicial de polietilenoglicol 3350, no sentido de facilitar a excreção dos pacotes. Contudo, o desenvolvimento de uma crise convulsiva justificou a administração de diazepam. Apesar da prestação de cuidados médicos apropriados, a mulher acabou por falecer, o que fundamentou a realização de uma cirurgia cesariana. O bebé foi transferido para a unidade de cuidados intensivos, tendo sido intubado.

A autópsia permitiu a observação de 157 pacotes de cocaína (aproximadamente 830 mg da droga), localizados no estômago e no intestino grosso e delgado. Através da análise sanguínea foi possível determinar as concentrações plasmáticas de cocaína e BZE, 4,6 mg/L e 12 mg/L, respetivamente. Estes valores foram justificados pela rutura de um dos pacotes recuperados.

Os resultados toxicológicos revelaram a presença de elevadas concentrações de cocaína e BZE, sendo estas fatais para a vítima. A sua condição clínica também foi um fator para o insucesso da terapêutica, já que ainda não se encontram descritos na literatura um número suficiente de casos e estratégias clínicas para aplicação em situações que contemplem a síndrome do *body packer* e a gravidez (Cordero *et al.*, 2006).

Caso #5

Homem com 35 anos e antecedentes de consumo de cocaína submeteu-se a um programa de avaliação do estado de abstinência (no hospital San Bortolo, em Veneza) cerca de 2

meses após ter saído em liberdade, com o intuito de obter a sua carta de condução. Durante a entrevista declarou ter cessado o consumo de cocaína há cerca de 1 ano, contudo teria que proceder à recolha de urina, semanalmente e sob supervisão.

Para além das amostras de urina, também se procedeu à recolha de amostras de cabelo. Devido ao resultado positivo obtido na matriz queratinizada, procedeu-se à recolha da urina 2 vezes por semana desde março a dezembro de 2006. Apesar de em julho de 2006 se obterem resultados negativos na amostra de cabelo, foi acordado a extensão da análise à urina até março de 2007. Até fevereiro do mesmo ano os resultados obtidos para a urina foram sempre negativos, porém uma análise ao cabelo revelou de novo um resultado positivo para o consumo ocasional de cocaína. Assim, a comissão médica decidiu continuar com os testes a amostras de cabelo e urina, todavia o sujeito acabou por adulterar a amostra de cabelo com lixívia e, em março de 2007, a análise realizada nesta matriz revelou um resultado negativo (tabela 9).

Tabela 9: Resultados obtidos nas análises à urina e ao cabelo (adaptado de Polla *et al.*, 2009).

COLHEITA DA AMOSTRA DE URINA	FREQUÊNCIA DA ANÁLISE À URINA	RESULTADOS	COLHEITA DA AMOSTRA DE CABELO	RESULTADOS (ng/mg)	
				COCAÍNA	BZE
novembro 2005- março 2006	1 vez por semana	Negativo	novembro 2005	0,69	0,22
			março 2006	1,09	0,48
abril-junho 2006	1 vez por semana	Negativo	junho 2006	0,51	-
julho 2006	2 vezes por semana	Negativo	julho 2006	0,44	0,23
agosto-dezembro 2006	2 vezes por semana	Negativo	-	-	-
janeiro-março 2007	2 vezes por semana	Negativo	fevereiro 2007	0,83	0,27
março 2007	2 vezes por semana	Negativo	março 2007	Negativo	Negativo

A análise dos resultados toxicológicos permite concluir que a análise ao cabelo possibilita a obtenção de informação mais detalhada quanto ao padrão de consumo da cocaína. De fato, este caso é um exemplo que demonstra que a pesquisa de cocaína e metabolitos no cabelo permite obter uma análise mais precisa em situações de adulteração das amostras de urina. Apesar do sujeito ter declarado que já não consumia cocaína há cerca de um ano, os resultados toxicológicos demonstram o contrário, visto que com a análise ao cabelo se obteve valores positivos de cocaína e BZE. Para além disso, através da avaliação da tabela 9 conclui-se que existe uma variação das concentrações obtidas no cabelo, já que apesar de todas as amostras de urina terem sido negativas, inicialmente se verifica

um aumento das concentrações de cocaína e BZE no cabelo, indicativo do aumento do consumo da droga.

A alteração dos valores obtidos no cabelo que se verifica a partir de junho de 2006 encontra-se provavelmente associada à diminuição do consumo da droga, o que permitiu a obtenção de um resultado negativo em julho de 2006 (embora a razão entre BZE e cocaína seja superior a 0,05, a concentração de cocaína obtida é inferior ao valor de *cut-off*, estabelecido pela SAMHSA, 500 pg/mg). Contudo, em fevereiro de 2007 obteve-se uma amostra de cabelo positiva, indicativo do aumento do consumo de cocaína. Apesar da adulteração da amostra de cabelo em março de 2007, a legislação italiana estabelece que os indivíduos devem permanecer abstinentes do consumo durante um período de 6 anos para a obtenção da carta de condução, o que implica futuras análises complementares (Polla *et al.*, 2009).

Caso #6

Devido ao estilo de condução, 26.567 condutores foram fiscalizados por suspeita de condução sob influência de drogas ilícitas, no período compreendido entre 2000 e 2004. Os agentes policiais envolvidos nesta operação descreveram os condutores como indivíduos agitados e com discurso incoerente, apresentando uma condução perigosa caracterizada pela alta velocidade e pelo desrespeito da regulamentação rodoviária.

Foram recolhidas amostras de sangue e urina, procedendo-se à sua análise toxicológica. A presença de cocaína e/ou BZE foi confirmada em 795 casos (3%), sendo que os condutores eram predominantemente homens com idade entre 20 e 35 anos. Recorrendo a um limite de quantificação de 0,02 mg/L, verificou-se que em 574 casos a concentração de cocaína e BZE era menor que o limite apresentado, apesar da concentração de BZE ser sempre superior à do composto pai. Em 61 casos foi reportado a presença de cocaína e BZE como as únicas substâncias psicoativas presentes nas amostras, apresentando valores de concentração mínima e máxima de 0,095 mg/L e 0,5 mg/L para a cocaína e 1,01 mg/L e 3,1 mg/L para a BZE, respetivamente (Jones *et al.*, 2008).

V. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

A cocaína é uma das drogas ilícitas mais consumidas em todo o mundo, conhecida pelo seu forte poder estimulante. Atualmente apresenta um lugar de destaque no âmbito da Toxicologia Forense por estar muitas vezes envolvida em situações de rastreio de drogas ilícitas, alterações da performance humana e em casos de morte, podendo ser a causa ou ter contribuído para tal.

A grande variedade de matrizes biológicas e o recurso à tecnologia moderna permite a identificação de drogas presentes em baixas quantidades (como partes por bilião). A escolha das matrizes representa um desafio complexo, uma vez que a análise toxicológica apenas é realizada em amostras que disponham de literatura suficiente, de modo a obter resultados fidedignos e interpretáveis de acordo com o método previamente validado. Por norma, a urina e o sangue são as matrizes de eleição para determinação da exposição à cocaína. Contudo, pode ser adquirida informação adicional através da análise de matrizes alternativas, como por exemplo o cabelo, a saliva, o suor, entre outros, que devem ser usadas como complemento à investigação e não como substitutas das matrizes tradicionais.

Entretanto, tem-se verificado uma tendência crescente de utilização de métodos de colheita menos invasivos em testes de rastreio de drogas bem como de procedimentos analíticos cada vez mais sensíveis, com limites de deteção mais baixos. Com a melhoria e desenvolvimento de novos métodos analíticos e técnicas de extração, também se prevê a diminuição da quantidade de amostra necessária, reduzindo a interferência dos compostos presentes na matriz.

Porém, a interpretação de dados toxicológicos associados a mortes por sobredosagem de cocaína é complexa, já que depende de vários fatores incluindo a via de administração, diferenças de metabolismo face ao tipo de consumo e redistribuição *post-mortem*. Assim, a identificação deste tipo de morte envolve a revisão da literatura científica, a análise do local onde ocorreu a morte, a realização da autópsia completa bem como de estudos toxicológicos, no sentido de identificar, confirmar e quantificar a cocaína e/ou os seus metabolitos nas amostras recolhidas.

Com este trabalho foi possível reunir informação científica sobre a cocaína, esclarecendo aspetos *post-mortem* relativos às investigações forenses. Estas evidências permitiram

responder às questões que deram início a esta revisão bibliográfica. Desta forma, conclui-se que:

1. A cocaína e os seus metabolitos estão sujeitos a fenómenos de redistribuição *post-mortem*.
2. É reconhecido que as concentrações *post-mortem* desta droga dependem do local de colheita e variam consoante o intervalo *post-mortem*.
3. As análises toxicológicas são realizadas em sangue periférico, já que é menos sujeito à redistribuição *post-mortem*.
4. O tecido cerebral pode ser considerado uma matriz de elevado interesse para extrapolar os valores de concentração *ante-mortem*.
5. A análise do cabelo fornece informações adicionais na determinação do consumo crónico ou ocasional da cocaína.
6. Os fenómenos de redistribuição *post-mortem*, as propriedades farmacológicas e o processo metabólico a que a cocaína é sujeita permitem explicar a discrepância entre as concentrações *ante-* e *post-mortem*.
7. O uso de fluoreto de sódio e a conservação a uma temperatura de 4°C são métodos de preservação essenciais para manter a estabilidade da cocaína, evitando a alteração da sua concentração nas amostras.

Deste modo, com esta revisão bibliográfica destacam-se algumas particularidades da cocaína, no âmbito da área forense. Todavia, a instabilidade química e enzimática e suscetibilidade da cocaína ao fenómeno de redistribuição *post-mortem* implicam estudos adicionais neste âmbito, de modo a facilitar a interpretação dos dados obtidos.

VI. BIBLIOGRAFIA

Afonso, L.; Mohammad, T. e Thatai, D. (2007). Crack whips the heart: a review of the cardiovascular toxicity of cocaine. *The American journal of cardiology*, 100, pp. 1040-1043.

Agarwal, A. e Lemos, N. (1996). Significance of bile analysis in drug-induced deaths. *Journal of analytical toxicology*, 20, pp. 61-63.

Aiello, T. B. e Peçanha, M. P. (2012). Análise toxicológica forense: da ficção científica à realidade. *Revista Eletrônica de Biologia (REB)*. ISSN 1983-7682, 4.

Allen, D. L. e Oliver, J. S. (2000). The application of supercritical fluid extraction to cocaine and its metabolites in blood and urine. *Journal of analytical toxicology*, 24, pp. 228-232.

Álvarez, I.; Bermejo, A. M.; Taberner, M. J., *et al.* (2007). Determination of cocaine and cocaethylene in plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 845, pp. 90-94.

Andrada, N. D.; Marques, A.; Ribeiro, M., *et al.* (2012). Abuse and addiction: crack. *Revista da Associação Médica Brasileira (English Edition)*, 58, pp. 141-153.

Andrews, G. e Solomon, D. (1975). *The Coca Leaf and Cocaine Papers*. USA, Harcourt Brace Jovanovich.

Appenzeller, B. M.; Schneider, S.; Yegles, M., *et al.* (2005). Drugs and chronic alcohol abuse in drivers. *Forensic science international*, 155, pp. 83-90.

Ardrey, R. E. (2003). *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction*. John Wiley & Sons.

Bailey, K. M.; Clay, D. J.; Gebhardt, M. A., *et al.* (2009). Cocaine Detection in Postmortem Samples Following Therapeutic Administration. *Journal of analytical toxicology*, 33, pp. 550-552.

Baldwin, G. C.; Choi, R.; Roth, M. D., *et al.* (2002). Evidence of chronic damage to the pulmonary microcirculation in habitual users of alkaloidal (“crack”) cocaine. *CHEST Journal*, 121, pp. 1231-1238.

Barroso, M.; Gallardo, E. e Queiroz, J. (2009). Bioanalytical methods for the determination of cocaine and metabolites in human biological samples. *Bioanalysis*, 1, pp. 977-1000.

Baumann, B. M.; Perrone, J.; Hornig, S. E., *et al.* (2000). Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial of Diazepam, Nitroglycerin, or Both for Treatment of Patients with Potential Cocaine-associated Acute Coronary Syndromes. *Academic Emergency Medicine*, 7, pp. 878-885.

Baysal, A. e Akman, S. (2010). Determination of lead in hair and its segmental analysis by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 65, pp. 340-344.

Bemanian, S.; Motallebi, M. e Nosrati, S. M. (2005). Cocaine-induced renal infarction: report of a case and review of the literature. *BMC nephrology*, 6, p. 10.

Bernejo, A. M.; López, P.; Álvarez, I., *et al.* (2006). Solid-phase microextraction for the determination of cocaine and cocaethylene in human hair by gas chromatography–mass spectrometry. *Forensic science international*, 156, pp. 2-8.

Bertol, E.; Trignano, C.; Di Milia, M. G., *et al.* (2008). Cocaine-related deaths: an enigma still under investigation. *Forensic science international*, 176, pp. 121-123.

Boelsterli, U. A. e Gödlin, C. (1991). Biomechanisms of cocaine-induced hepatocyte injury mediated by the formation of reactive metabolites. *Archives of toxicology*, 65, pp. 351-360.

Boess, F.; Ndikum-Moffor, F. M.; Boelsterli, U. A., *et al.* (2000). Effects of cocaine and its oxidative metabolites on mitochondrial respiration and generation of reactive oxygen species. *Biochemical pharmacology*, 60, pp. 615-623.

Bortolotti, F.; Gottardo, R.; Pascali, J., *et al.* (2012). Toxicokinetics of cocaine and metabolites: the forensic toxicological approach. *Current medicinal chemistry*, 19, pp. 5658-5663.

Bosker, W. M. e Huestis, M. A. (2009). Oral fluid testing for drugs of abuse. *Clinical chemistry*, 55, pp. 1910-1931.

Boumba, V. A.; Ziavrou, K. S. e Vougiouklakis, T. (2006). Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants. *International journal of toxicology*, 25, pp. 143-163.

Brogan, W. C.; Kemp, P. M.; Bost, R. O., *et al.* (1992). Collection and handling of clinical blood samples to assure the accurate measurement of cocaine concentration. *Journal of analytical toxicology*, 16, pp. 152-154.

Brookoff, D.; Rotondo, M. F.; Shaw, L. M., *et al.* (1996). Cocaethylene levels in patients who test positive for cocaine. *Annals of emergency medicine*, 27, pp. 316-320.

Brown, E.; Prager, J.; Lee, H. Y., *et al.* (1992). CNS complications of cocaine abuse: prevalence, pathophysiology, and neuroradiology. *AJR Am J Roentgenol*, 159, pp. 137-47.

Brzezinski, M. R.; Abraham, T. L.; Stone, C. L., *et al.* (1994). Purification and characterization of a human liver cocaine carboxylesterase that catalyzes the production of benzoylecgonine and the formation of cocaethylene from alcohol and cocaine. *Biochemical pharmacology*, 48, pp. 1747-1755.

Bulcão, R.; Garcia, S. C.; Limberger, R. P., *et al.* (2012). Designer drugs: aspectos analíticos e biológicos. *Quim. Nova*, 35, pp. 149-158.

Butzbach, D. M. (2010). The influence of putrefaction and sample storage on post-mortem toxicology results. *Forensic science, medicine, and pathology*, 6, pp. 35-45.

Caplan, Y. H. e Goldberger, B. A. (2001). Alternative specimens for workplace drug testing. *Journal of analytical toxicology*, 25, pp. 396-399.

Caron, M. G. (1996). Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature*, 379, p. 15.

Carvalho, V. M.; Fukushima, A. R.; Fontes, L. R., *et al.* (2013). Cocaine postmortem distribution in three brain structures: A comparison with whole blood and vitreous humour. *Journal of forensic and legal medicine*, 20, pp. 143-145.

Catterall, W. A. e Mackie, K. (2006). Local Anesthetics. *In: Brunton, L. L. (ed.). The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11^a ed. USA, McGraw-Hill, pp. 369-386.

Chiaradia, M. C.; Collins, C. H. e Jardim, I. (2008). O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Química nova*, 31, pp. 623-636.

Chow, M. J.; Ambre, J. J.; Ruo, T. I., *et al.* (1985). Kinetics of cocaine distribution, elimination, and chronotropic effects. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 38, pp. 318-324.

Citrome, L. e Volavka, J. (1999). Violent patients in the emergency setting. *Psychiatric Clinics of North America*, 22, pp. 789-801.

Concheiro, M.; De Castro, A.; Quintela, Ó., *et al.* (2006). Determination of drugs of abuse and their metabolites in human plasma by liquid chromatography–mass spectrometry: an application to 156 road fatalities. *Journal of Chromatography B*, 832, pp. 81-89.

Cone, E. J. (1995). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cocaine. *Journal of Analytical Toxicology*, 19, pp. 459-478.

Cone, E. J.; Caplan, Y. H.; Black, D. L., *et al.* (2008). Urine drug testing of chronic pain patients: licit and illicit drug patterns. *Journal of analytical toxicology*, 32, pp. 530-543.

Cone, E. J. e Huestis, M. A. (2007). Interpretation of oral fluid tests for drugs of abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1098, pp. 51-103.

Cooper, G. A.; Kronstrand, R. e Kintz, P. (2012). Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic science international*, 218, pp. 20-24.

Cooper, G. A. A. (2011). Hair testing is taking root. *Annals of clinical biochemistry*, 48, pp. 516-530.

Cordero, D. R.; Medina, C. e Helfgott, A. (2006). Cocaine body packing in pregnancy. *Annals of emergency medicine*, 48, pp. 323-325.

Couper, F. J. e Logan, B. K. (2014). Drugs and human performance fact sheets.

Crandall, C. G.; Vongpatanasin, W. e Victor, R. G. (2002). Mechanism of cocaine-induced hyperthermia in humans. *Annals of Internal Medicine*, 136, pp. 785-791.

Cressman, A. M.; Natekar, A.; Kim, E., *et al.* (2014). Cocaine Abuse During Pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can*, 36, pp. 628-631.

Cruces-Blanco, C. e García-Campaña, A. (2012). Capillary electrophoresis for the analysis of drugs of abuse in biological specimens of forensic interest. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 31, pp. 85-95.

Da Costa, K. N.; Da Cruz, R. a. P. e Franco, Y. O. (2010). A Contribuição da toxicologia analítica na aplicação da toxicologia forense: exemplos da cocaína e do álcool etílico. *Revista de Estudos Universitários*, 36.

Deitel, M. e Syed, A. (1973). Intestinal obstruction by an unusual foreign body. *Canadian Medical Association Journal*, 109, p. 211.

Dinis-Oliveira, R.; Carvalho, F.; Duarte, J., *et al.* (2010a). Collection of biological samples in forensic toxicology. *Toxicology mechanisms and methods*, 20, pp. 363-414.

Dinis-Oliveira, R. J.; Carvalho, F.; Duarte, J. A., *et al.* (2012). Clinical and forensic signs related to cocaine abuse. *Curr Drug Abuse Rev*, 5, pp. 64-83.

Dinis-Oliveira, R. J.; Magalhães, T.; Carvalho, F., *et al.* (2009). A cocaine body packer case report: clinical and forensic aspects. *Clinical Toxicology*, 47, pp. 590-591.

Dinis-Oliveira, R. J.; Nunes, R.; Carvalho, F., *et al.* (2010b). Procedimentos técnicos, éticos e legais da competência do médico no cumprimento da lei da fiscalização da condução rodoviária sob influência do álcool e substâncias psicotrópicas. *Revista de Exemplo*, 23, pp. 1059-82.

Drummer, O. H. (2004). Postmortem toxicology of drugs of abuse. *Forensic science international*, 142, pp. 101-113.

Drummer, O. H. (2010). Forensic toxicology. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Springer, pp. 579-603.

Duer, W. C.; Spitz, D. J. e Mcfarland, S. (2006). Relationships between concentrations of cocaine and its hydrolysates in peripheral blood, heart blood, vitreous humor and urine. *Journal of forensic sciences*, 51, pp. 421-425.

Erzouki, H.; Allen, A.; Newman, A., *et al.* (1995). Effects of cocaine, cocaine metabolites and cocaine pyrolysis products on the hindbrain cardiac and respiratory centers of the rabbit ag. *Life sciences*, 57, pp. 1861-1868.

Evans, M. A. e Harbison, R. D. (1978). Cocaine-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 45, pp. 739-754.

Filip, M. G.; Frankowska, M. G.; Zaniowska, M., *et al.* (2005). The serotonergic system and its role in cocaine addiction. *Pharmacol Rep*, 57, pp. 685-700.

Flanagan, R. J. e Connally, G. (2005). Interpretation of analytical toxicology results in life and at postmortem. *Toxicological reviews*, 24, pp. 51-62.

Foltin, R. W.; Fischman, M.; Pedroso, J. J., *et al.* (1988). Repeated intranasal cocaine administration: lack of tolerance to pressor effects. *Drug and alcohol dependence*, 22, pp. 169-177.

Freye, E. (2009). How It All Started with Cocaine. *In: Freye, E. (ed.). Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs*. New York, Springer, pp. 9-104.

Fucci, N.; De Giovanni, N.; De Giorgio, F., *et al.* (2006). An evaluation of the Cozart® RapiScan system as an on-site screening tool for drugs of abuse in a non-conventional biological matrix: vitreous humor. *Forensic science international*, 156, pp. 102-105.

Gay, G. R. (1982). Clinical management of acute and chronic cocaine poisoning. *Annals of emergency medicine*, 11, pp. 562-572.

Gay, G. R.; Inaba, D. S.; Sheppard, C. W., *et al.* (1975). Cocaine: History, epidemiology, human pharmacology, and treatment. A perspective on a new debut for an old girl. *Clinical toxicology*, 8, pp. 149-178.

Gerostamoulos, D.; Middleberg, R. A.; Selavka, C. M., *et al.* (2009). *A Simplified Guide to Forensic Toxicology*. Florida, National Forensic Science Technology Center.

Giroud, C.; Michaud, K.; Sporkert, F., *et al.* (2004). A fatal overdose of cocaine associated with coingestion of marijuana, buprenorphine, and fluoxetine. Body fluid and tissue distribution of cocaine and its metabolites determined by hydrophilic interaction chromatography-mass spectrometry (HILIC-MS). *Journal of analytical toxicology*, 28, pp. 464-474.

Glauser, J. e Queen, J. R. (2007). An overview of non-cardiac cocaine toxicity. *The Journal of emergency medicine*, 32, pp. 181-186.

Goldstein, R. A.; Deslauriers, C.; Burda, A., *et al.* (2009). Cocaine: history, social implications, and toxicity: a review. *Seminars in diagnostic pathology*, 26, pp. 10-17.

Goodger, N.; Wang, J. e Pogrel, M. (2005). Palatal and nasal necrosis resulting from cocaine misuse. *British dental journal*, 198, pp. 333-334.

Gossop, M.; Manning, V. e Ridge, G. (2006). Concurrent use of alcohol and cocaine: differences in patterns of use and problems among users of crack cocaine and cocaine powder. *Alcohol and alcoholism*, 41, pp. 121-125.

Gourgoutis, G. e Das, G. (1994). Gastrointestinal manifestations of cocaine addiction. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 32, pp. 136-141.

Guinn, M. M.; Bedford, J. A. e Wilson, M. C. (1980). Antagonism of intravenous cocaine lethality in nonhuman primates. *Clinical toxicology*, 16, pp. 499-508.

Haim, D. Y.; Lippmann, M. L.; Goldberg, S. K., *et al.* (1995). The pulmonary complications of crack cocaine: a comprehensive review. *CHEST Journal*, 107, pp. 233-240.

Hawks, R. L. e Chiang, C. N. (1986). *Urine Testing for Drugs of Abuse*. USA, National Institute on Drug Abuse.

Heard, K.; Palmer, R. e Zahniser, N. R. (2008). Mechanisms of acute cocaine toxicity. *The open pharmacology journal*, 2, p. 70.

Hearn, W. L.; Keran, E. E.; Wei, H., *et al.* (1991). Site-dependent postmortem changes in blood cocaine concentrations. *Journal of forensic sciences*, 36, pp. 673-684.

Heit, H. A. e Gourlay, D. L. (2004). Urine drug testing in pain medicine. *Journal of pain and symptom management*, 27, pp. 260-267.

Herculiani, P. P.; Pires-Neto, R. C.; Bueno, H. M., *et al.* (2009). Effects of chronic exposure to crack cocaine on the respiratory tract of mice. *Toxicologic pathology*, 37, pp. 324-332.

Hippenstiel, M. J. e Gerson, B. (1994). Optimization of storage conditions for cocaine and benzoylecgonine in urine: a review. *Journal of analytical toxicology*, 18, pp. 104-109.

Hoffman, R. S.; Henry, G. C.; Howland, M. A., *et al.* (1992). Association between life-threatening cocaine toxicity and plasma cholinesterase activity. *Annals of emergency medicine*, 21, pp. 247-253.

Hollander, J. E. (1995). The management of cocaine-associated myocardial ischemia. *New England Journal of Medicine*, 333, pp. 1267-1272.

Hollander, J. E. (2004). Cocaine. *In: Dart, R. C. (ed.). Medical Toxicology*. 3ª ed. USA, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 1083-1092.

Hollander, J. E. e Henry, T. D. (2006). Evaluation and management of the patient who has cocaine-associated chest pain. *Cardiology clinics*, 24, pp. 103-114.

Honderick, T.; Williams, D.; Seaberg, D., *et al.* (2003). A prospective, randomized, controlled trial of benzodiazepines and nitroglycerine or nitroglycerine alone in the treatment of cocaine-associated acute coronary syndromes. *The American journal of emergency medicine*, 21, pp. 39-42.

Irjala, K. M. e Grönroos, P. E. (1998). Preanalytical and analytical factors affecting laboratory results. *Annals of medicine*, 30, pp. 267-272.

Isenschmid, D. S. (2010). Cocaine. *In: Levine, B. (ed.). Principles of Forensic Toxicology*. 3ª ed. New York, AACC Press, pp. 245-268.

Jatlow, P. (1988). Cocaine: analysis, pharmacokinetics, and metabolic disposition. *The Yale journal of biology and medicine*, 61, p. 105.

Javaid, J.; Musa, M. N.; Fischman, M., *et al.* (1983). Kinetics of cocaine in humans after intravenous and intranasal administration. *Biopharmaceutics & drug disposition*, 4, pp. 9-18.

Jenkins, A. J. (2008). Pharmacokinetics of Specific Drugs. *In*: Karch, S. B. (ed.). *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Abused Drugs*. New York, CRC Press, pp. 38-42.

Jones, A. W. e Holmgren, A. (2013). Concentrations of cocaine and benzoylecgonine in femoral blood from cocaine-related deaths compared with venous blood from impaired drivers. *Journal of analytical toxicology*, p. 94.

Jones, A. W.; Holmgren, A. e Kugelberg, F. C. (2008). Concentrations of cocaine and its major metabolite benzoylecgonine in blood samples from apprehended drivers in Sweden. *Forensic science international*, 177, pp. 133-139.

Kacinko, S. L.; Barnes, A. J.; Schwilke, E. W., *et al.* (2005). Disposition of cocaine and its metabolites in human sweat after controlled cocaine administration. *Clinical chemistry*, 51, pp. 2085-2094.

Kalivas, P. W. (2009). The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, pp. 561-572.

Kalivas, P. W. e Duffy, P. (1990). Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Synapse*, 5, pp. 48-58.

Karch, S. B. (1999). Cocaine: history, use, abuse. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 92, p. 393.

Karch, S. B. (2006). *A Brief History of Cocaine*. CRC Press.

Karch, S. B. (2007). *Drug Abuse Handbook*. USA, CRC Press.

Karch, S. B. (2008). *Postmortem Toxicology of Abused Drugs*. New York, CRC Press.

Karch, S. B. (2009). Cocaine. In: Karch, S. B. (ed.). *Karch's Pathology of Drug Abuse*. 4ª ed. New York, CRC Press, pp. 1-208.

Karch, S. B. e Stephens, B. G. (1999). Drug abusers who die during arrest or in custody. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 92, p. 110.

Katz, J. L.; Terry, P. e Witkin, J. M. (1992). Comparative behavioral pharmacology and toxicology of cocaine and its ethanol-derived metabolite, cocaine ethyl-ester (cocaethylene). *Life sciences*, 50, pp. 1351-1361.

Kitson, F. G.; Larsen, B. S. e Mcewen, C. N. (1996). *Gas Chromatography and Mass Spectrometry*. United Kingdom, Academic Press.

Klaassen, C. D. (2008). *Toxicology The Basic Science of Poisons*. USA, McGraw-Hill.

Klingmann, A.; Skopp, G. e Aderjan, R. (2001). Analysis of Cocaine, Benzoylecgonine Ecgonine Methyl Ester, and Ecgonine by High-Pressure Liquid Chromatography-API Mass Spectrometry and Application to a Short-Term Degradation Study of Cocaine in Plasma. *Journal of analytical toxicology*, 25, pp. 425-430.

Kloss, M. W.; Rosen, G. M. e Rauckman, E. J. (1984). Cocaine-mediated hepatotoxicity a critical review. *Biochemical pharmacology*, 33, pp. 169-173.

Kolbrich, E. A.; Barnes, A. J.; Gorelick, D. A., *et al.* (2006). Major and minor metabolites of cocaine in human plasma following controlled subcutaneous cocaine administration. *Journal of analytical toxicology*, 30, pp. 501-510.

Kovacic, P. (2005). Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Medical hypotheses*, 64, pp. 350-356.

Lange, R. A. e Hillis, L. D. (2001). Cardiovascular complications of cocaine use. *New England Journal of Medicine*, 345, pp. 351-358.

Leikin, J. B. e Paloucek, F. P. (2008). Cocaine. In: Paloucek, J. B. L. a. F. P. (ed.). *Poisoning and Toxicology Handbook*. 4ª ed. New York, Informa Health Care, pp. 84-85; 212-215.

Levine, B. S. e Jufer, R. A. (2008). Drugs of abuse testing in vitreous humor. *Drug testing in alternate biological specimens*. Springer, pp. 117-130.

Levisky, J. A.; Bowerman, D. L.; Jenkins, W. W., *et al.* (2000). Drug deposition in adipose tissue and skin: evidence for an alternative source of positive sweat patch tests. *Forensic science international*, 110, pp. 35-46.

Lewis, R. J.; Johnson, R. D.; Angier, M. K., *et al.* (2003). Analysis of Cocaine, Its Metabolites, Pyrolysis Products, and Ethanol Adducts in Postmortem Fluids and Tissues Using Zymark Automated Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. DTIC Document.

Lidow, M. S. e Song, Z.-M. (2001a). Effect of cocaine on cell proliferation in the cerebral wall of monkey fetuses. *Cerebral Cortex*, 11, pp. 545-551.

Lidow, M. S. e Song, Z. M. (2001b). Primates exposed to cocaine in utero display reduced density and number of cerebral cortical neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 435, pp. 263-275.

Limberger, R. P.; Fröhlich, P. E.; Boehl, P. O., *et al.* (2008). Testes toxicológicos para aferição de substâncias psicoativas em condutores.

Logan, B.; Smirnow, D. e Gullberg, R. (1997). Lack of predictable site-dependent differences and time-dependent changes in postmortem concentrations of cocaine, benzoylecgonine, and cocaethylene in humans. *Journal of analytical toxicology*, 21, pp. 23-31.

Logan, B. K. e Goldberger, B. A. (2010). *What is Forensic Toxicology?* USA, The Forensic Toxicology Council.

Lombard, J.; Wong, B. e Young, J. H. (1988). Acute renal failure due to rhabdomyolysis associated with cocaine toxicity. *Western Journal of Medicine*, 148, p. 466.

Lowe, R. H.; Barnes, A. J.; Lehrmann, E., *et al.* (2006). A validated positive chemical ionization GC/MS method for the identification and quantification of amphetamine, opiates, cocaine, and metabolites in human postmortem brain. *Journal of mass spectrometry*, 41, pp. 175-184.

Macdonald, S.; Mann, R.; Chipman, M., *et al.* (2008). Driving behavior under the influence of cannabis or cocaine. *Traffic Injury Prevention*, 9, pp. 190-194.

Mackey-Bojack, S.; Kloss, J. e Apple, F. (2000). Cocaine, cocaine metabolite, and ethanol concentrations in postmortem blood and vitreous humor. *Journal of analytical toxicology*, 24, pp. 59-65.

Madhira, M. M.; Mohan, S.; Markowitz, G. S., *et al.* (2009). Acute bilateral renal infarction secondary to cocaine-induced vasospasm. *Kidney international*, 76, pp. 576-580.

Madras, B. (2014). Drug Use and Its Consequences. *In: Kuhar, B. M. a. M. (ed.). The Effects of Drug Abuse on the Human Nervous System*. 1ª ed. USA, Elsevier, pp. 1-35.

Maio, T. G. D. e Maio, V. J. M. D. (2006). *Excited Delirium Syndrome: Cause of Death and Prevention*. New York, CRC Press.

Mantovani, C. D. C.; Pego, A. M. F. e Yonamine, M. (2015). Cocaína. *In: Dinis-Oliveira, R. J.; Carvalho, F. D. e Bastos, M. D. L. (eds.). Toxicologia Forense*. Lisboa, Pactor, pp. 217-228.

Maraj, S.; Figueredo, V. M. e Lynn Morris, D. (2010). Cocaine and the heart. *Clinical cardiology*, 33, pp. 264-269.

Martin, S. D.; Yeragani, V. K.; Lodhi, R., *et al.* (1989). Clinical ratings and plasma HVA during cocaine abstinence. *Biological psychiatry*, 26, pp. 356-362.

Mccance-Katz, E. F.; Price, L. H.; Mcdougale, C. J., *et al.* (1993). Concurrent cocaine-ethanol ingestion in humans: pharmacology, physiology, behavior, and the role of cocaethylene. *Psychopharmacology*, 111, pp. 39-46.

Mccord, J.; Jneid, H.; Hollander, J. E., *et al.* (2008). Management of cocaine-associated chest pain and myocardial infarction a scientific statement from the American heart association acute cardiac care committee of the council on clinical cardiology. *Circulation*, 117, pp. 1897-1907.

Mcintyre, K. M. (2004). Vasopressin in asystolic cardiac arrest. *New England Journal of Medicine*, 350, pp. 179-180.

Mckinney, P. E.; Phillips, S.; Gomez, H., *et al.* (1995). Vitreous humor cocaine and metabolite concentrations: do postmortem specimens reflect blood levels at the time of death? *Journal of forensic sciences*, 40, pp. 102-102.

Mehanny, S. Z. e Abdel-Rahman, M. S. (1991). Cocaine hepatotoxicity in mice: Histologic and enzymatic studies. *Toxicologic pathology*, 19, pp. 24-29.

Mendham, J.; Denney, R. C.; Barnes, J. D., *et al.* (2002). *Análise Química Quantitativa*. Rio de Janeiro, LTC.

Moffat, A. C.; Osselton, M. D. e Widdop, B. (2011). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. USA, Pharmaceutical Press.

Mottram, D. R. (2003). *Drugs in Sport*. Canada, Routledge.

Muñiz, A. E. e Evans, T. (2001). Acute gastrointestinal manifestations associated with use of crack. *The American journal of emergency medicine*, 19, pp. 61-63.

Musshoff, F.; Driever, F.; Lachenmeier, K., *et al.* (2006). Results of hair analyses for drugs of abuse and comparison with self-reports and urine tests. *Forensic science international*, 156, pp. 118-123.

Ndikum-Moffor, F. M.; Schoeb, T. R. e Roberts, S. M. (1998). Liver toxicity from norcocaine nitroxide, an N-oxidative metabolite of cocaine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 284, pp. 413-419.

Negrusz, A. e Cooper, G. (2013). *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. London, Pharmaceutical Press.

O'leary, M. E. e Hancox, J. C. (2010). Role of voltage-gated sodium, potassium and calcium channels in the development of cocaine-associated cardiac arrhythmias. *British journal of clinical pharmacology*, 69, pp. 427-442.

OCME (2013). Interpretation of Toxicology Results [**Em linha**]. **Disponível em** <http://www.ocme.dhhs.nc.gov/index.shtml> [**Consultado em** 21/06/2015].

OEDT (2014). *European Drug Report 2014: Trends and developments*. Espanha, Publications Office of the European Union.

Om, A.; Ellahham, S.; Ornato, J. P., *et al.* (1993). Medical complications of cocaine: possible relationship to low plasma cholinesterase enzyme. *American heart journal*, 125, pp. 1114-1117.

Paterson, D.; Rogers, J.; Powell, T., *et al.* (1993). Effect of catecholamines on the ventricular myocyte action potential in raised extracellular potassium. *Acta physiologica scandinavica*, 148, pp. 177-186.

Pélissier-Alicot, A.-L.; Gaulier, J.-M.; Champsaur, P., *et al.* (2003). Mechanisms underlying postmortem redistribution of drugs: a review. *Journal of analytical toxicology*, 27, pp. 533-544.

Pellegrini, M.; Casá, A.; Marchei, E., *et al.* (2006). Development and validation of a gas chromatography–mass spectrometry assay for opiates and cocaine in human teeth. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 40, pp. 662-668.

Penning, R.; Veldstra, J. L.; Daamen, A. P., *et al.* (2010). Drugs of abuse, driving and traffic safety. *Current drug abuse reviews*, 3, pp. 23-32.

Perino, L. E.; Warren, G. H. e Levine, J. S. (1987). Cocaine-induced hepatotoxicity in humans. *Gastroenterology*, 93, pp. 176-180.

PGDL (2007). [Em linha]. Disponível em <http://www.pgdlisboa.pt/home.php> [Consultado em 18/03/2015].

Phillips, D. P. e Brewer, K. M. (2011). The relationship between serious injury and blood alcohol concentration (BAC) in fatal motor vehicle accidents: BAC= 0.01% is associated with significantly more dangerous accidents than BAC= 0.00%. *Addiction*, 106, pp. 1614-1622.

Pichini, S.; Pacifici, R.; Pellegrini, M., *et al.* (2003). Development and validation of a liquid chromatography–mass spectrometry assay for the determination of opiates and cocaine in meconium. *Journal of Chromatography B*, 794, pp. 281-292.

Pilgrim, J. L.; Woodford, N. e Drummer, O. H. (2013). Cocaine in sudden and unexpected death: a review of 49 post-mortem cases. *Forensic Sci Int*, 227, pp. 52-9.

Plessinger, M. A. e Woods Jr, J. R. (1998). Cocaine in pregnancy: Recent data on maternal and fetal risks. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 25, pp. 99-118.

Poklis, A. (1997). Forensic toxicology. *Introduction to Forensic Sciences*, pp.

Polla, M.; Stramesi, C.; Pichini, S., *et al.* (2009). Hair testing is superior to urine to disclose cocaine consumption in driver's licence regranting. *Forensic science international*, 189, pp. 41-43.

Pragst, F. e Balikova, M. A. (2006). State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta*, 370, pp. 17-49.

Prinzleve, M.; Haasen, C.; Zurhold, H., *et al.* (2004). Cocaine use in Europe—a multi-centre study: patterns of use in different groups. *European Addiction Research*, 10, pp. 147-155.

Pujadas, M.; Pichini, S.; Civit, E., *et al.* (2007). A simple and reliable procedure for the determination of psychoactive drugs in oral fluid by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 44, pp. 594-601.

Ragoucy-Sengler, C. e Kintz, P. (2005). Detection of smoked cocaine marker (anhydroecgonine methylester) in nails. *Journal of analytical toxicology*, 29, pp. 765-768.

Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M., *et al.* (2012). *Rang and Dale's Pharmacology*. Espanha, Elsevier.

Rangel, R. (2003). Noções Gerais sobre outras ciências forenses. *Porto: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto*, pp.

Restrepo, C. S.; Carrillo, J. A.; Martínez, S., *et al.* (2007). Pulmonary Complications from Cocaine and Cocaine-based Substances: Imaging Manifestations 1. *Radiographics*, 27, pp. 941-956.

Restrepo, C. S.; Rojas, C. A.; Martinez, S., *et al.* (2009). Cardiovascular complications of cocaine: imaging findings. *Emergency radiology*, 16, pp. 11-19.

Ritz, M. C. e George, F. R. (1997). Cocaine toxicity: concurrent influence of dopaminergic, muscarinic and sigma receptors in mediating cocaine-induced lethality. *Psychopharmacology*, 129, pp. 311-321.

Romano, M.; Ribeiro, M. e Marques, A. (2002). *Abuso e Dependência da Cocaína*. Brasil, Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina.

SAMHSA (2004). *Proposed Revisions to Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs*. EUA, Federal Register.

Samyn, N.; De Boeck, G. e Verstraete, A. G. (2002). The use of oral fluid and sweat wipes for the detection of drugs of abuse in drivers. *Journal of forensic sciences*, 47, pp. 1380-1387.

Schaper, A.; Hofmann, R.; Bargain, P., *et al.* (2007). Surgical treatment in cocaine body packers and body pushers. *International journal of colorectal disease*, 22, pp. 1531-1535.

Schulz, M. e Schmoltdt, A. (2003). Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, pp. 447-474.

Shahnazi, M.; Taheri, M. S. e Pourghorban, R. (2011). Body packing and its radiologic manifestations: a review article. *Iranian Journal of Radiology*, 8, p. 205.

Shakleya, D. M. e Huestis, M. A. (2009). Simultaneous quantification of nicotine, opioids, cocaine, and metabolites in human fetal postmortem brain by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393, pp. 1957-1965.

Sheaff, M. T. e Hopster, D. J. (2005). *Post Mortem Technique Handbook*. London, Springer.

SICAD (2007). [Em linha]. Disponível em <http://www.sicad.pt/pt/Paginas/default.aspx> [Consultado em 18/03/2015].

SICAD (2014). *Relatório Anual 2013 - A Situação do País em Matéria de Drogas e Toxicodependências*. SICAD.

Skopp, G. (2004). Preanalytic aspects in postmortem toxicology. *Forensic science international*, 142, pp. 75-100.

Skopp, G. (2010). Postmortem toxicology. *Forensic science, medicine, and pathology*, 6, pp. 314-325.

Skopp, G. A. (2009). Postmortem toxicology: artifacts. *Wiley Encyclopedia of Forensic Science*, pp.

Smith, F. P. (2005). *Handbook of Forensic Drug Analysis*. USA, Elsevier.

Smith, L. M.; Qureshi, N.; Renslo, R., *et al.* (2001). Prenatal cocaine exposure and cranial sonographic findings in preterm infants. *Journal of clinical ultrasound*, 29, pp. 72-77.

Staley, J. K.; Rothman, R. B.; Rice, K. C., *et al.* (1997). $\kappa 2$ opioid receptors in limbic areas of the human brain are upregulated by cocaine in fatal overdose victims. *The Journal of neuroscience*, 17, pp. 8225-8233.

Stephens, B. G.; Jentzen, J. M.; Karch, S., *et al.* (2004). Criteria for the interpretation of cocaine levels in human biological samples and their relation to the cause of death. *The American journal of forensic medicine and pathology*, 25, pp. 1-10.

Stewart, A.; Heaton, N. e Hogbin, B. (1990). Body packing--a case report and review of the literature. *Postgraduate medical journal*, 66, pp. 659-661.

Tashkin, D. P.; Kleerup, E. C.; Koyal, S. N., *et al.* (1996). Acute effects of inhaled and iv cocaine on airway dynamics. *CHEST Journal*, 110, pp. 904-910.

Trujillo, K. A. e Akil, H. (1995). Excitatory amino acids and drugs of abuse: a role for N-methyl-d-aspartate receptors in drug tolerance, sensitization and physical dependence. *Drug and alcohol dependence*, 38, pp. 139-154.

Tsanaclis, L. M.; Wicks, J. F. e Da Matta Chasin, A. A. (2011). Análises de drogas em cabelos ou pêlos. *RevInter Revista de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, 4.

UNODC (2014). *World Drug Report 2014*. New York, United Nations.

Valente, M.; Carvalho, F.; Bastos, M., *et al.* (2012). Contribution of oxidative metabolism to cocaine-induced liver and kidney damage. *Current medicinal chemistry*, 19, pp. 5601-5606.

Vanbinst, R.; Koenig, J.; Di Fazio, V., *et al.* (2002). Bile analysis of drugs in postmortem cases. *Forensic science international*, 128, pp. 35-40.

Verstraete, A. G. (2004). Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. *Therapeutic drug monitoring*, 26, pp. 200-205.

Verstraete, A. G. (2005). Oral fluid testing for driving under the influence of drugs: history, recent progress and remaining challenges. *Forensic Science International*, 150, pp. 143-150.

Villa, P. D. (1999). Midfacial complications of prolonged cocaine snorting. *Journal-Canadian Dental Association*, 65, pp. 218-224.

Volkow, N.; Wang, G.-J.; Fischman, M., *et al.* (1997). Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy.

Volkow, N. D. (2010). *Cocaine*. National Institute on Drug Abuse.

Volkow, N. D.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P., *et al.* (1992). Distribution and kinetics of carbon-11-cocaine in the human body measured with PET. *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine*, 33, pp. 521-525.

Wenzel, V.; Krismer, A. C.; Arntz, H. R., *et al.* (2004). A comparison of vasopressin and epinephrine for out-of-hospital cardiopulmonary resuscitation. *New England Journal of Medicine*, 350, pp. 105-113.

White, S. M. e Lambe, C. J. (2003). The pathophysiology of cocaine abuse. *J Clin Forensic Med*, 10, pp. 27-39.

Williams, R. e Samuel, E. (2009). Excited delirium: Consideration of selected medical and psychiatric issues. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, p. 61.

Witchel, H. J.; Hancox, J. C. e Nutt, D. J. (2003). Psychotropic drugs, cardiac arrhythmia, and sudden death. *Journal of clinical psychopharmacology*, 23, pp. 58-77.

Woods, J. R.; Plessinger, M. A. e Clark, K. E. (1987). Effect of cocaine on uterine blood flow and fetal oxygenation. *Jama*, 257, pp. 957-961.

Wyman, J. F. (2012). Principles and procedures in forensic toxicology. *Clinics in laboratory medicine*, 32, pp. 493-507.

Yarema, M. C. e Becker, C. E. (2005). Key concepts in postmortem drug redistribution. *Clinical Toxicology*, 43, pp. 235-241.

Zimmerman, J. L. (2012). Cocaine intoxication. *Critical care clinics*, 28, pp. 517-526.