

TOXICOLOGÍA FORENSE Y SUS IMPLICACIONES

- ❖ **TENDENCIAS DE CONSUMO**
- ❖ **VARIABILIDAD INDIVIDUAL**
- ❖ **TOXICOGENOMICA**
- ❖ **FARMACOLOGIA DROGAS DE ABUSO**
- ❖ **DETECCION DEL CONSUMO**
- ❖ **PRUEBAS ANTIDOPING**
- ❖ **ADULTERANTES**
- ❖ **CADENA DE CUSTODIA**
- ❖ **PRUEBAS PRESUNTIVAS**
- ❖ **PRUEBA CONFIRMATORIA**
- ❖ **DICTAMEN FINAL**

Dr.en C. Elias Miranda González

SUSCEPTIBILIDAD INDIVIDUAL

Es la variabilidad de la respuesta biológica en función de las características individuales de un organismo.

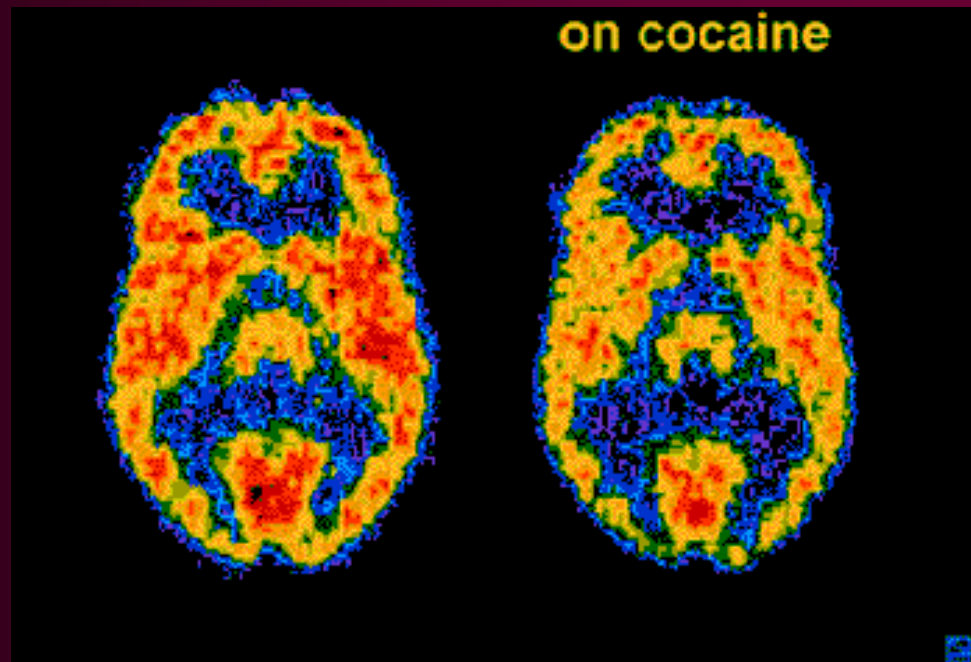
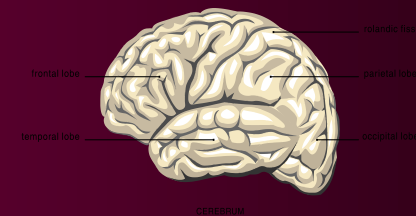


Por ejemplo dos compañeros de trabajo que desempeñaron funciones idénticas durante 15 años. Uno de ellos desarrolla una enfermedad inducida por las exposiciones a los tóxicos y el otro no.

Las respuestas tóxicas pueden variar entre individuos



COCAINA NEUROTOXICIDAD...



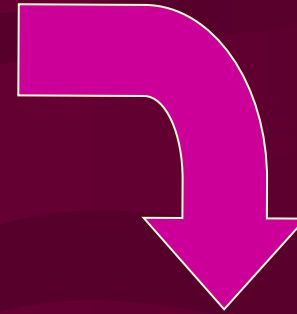
NATIONAL INSTITUTE DRUG ABUSE
ROJO=USO ALTO DE GLUCOSA
AMARILLO= USO MEDIO DE GLUCOSA
AZUL =NO USA GLUCOSA



RESPUESTA INDIVIDUAL A LAS DROGAS



- INTERACCIONES DEL FARMACO
- EDAD
- ESTADO NUTRICIONAL
- ESTADO HEPATICO Y RENAL
- ENFERMEDADES ASOCIADAS



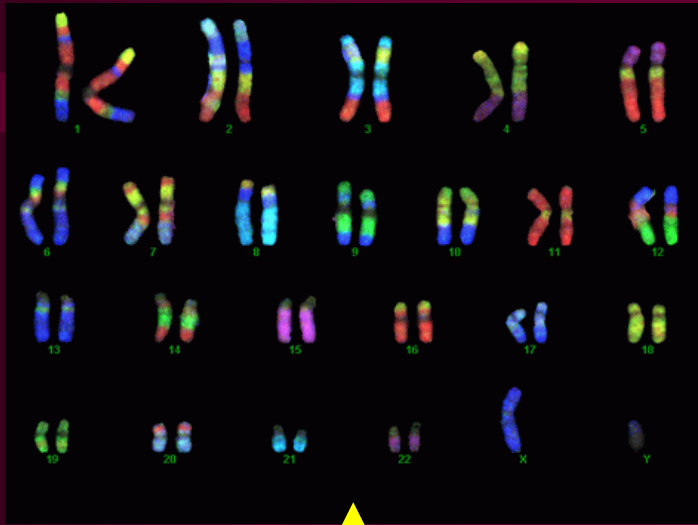
DIFERENCIAS HEREDADAS (POLIMORFISMOS)

- METABOLISMO
- DISTRIBUCION
- RECEPTORES
- ELIMINACION

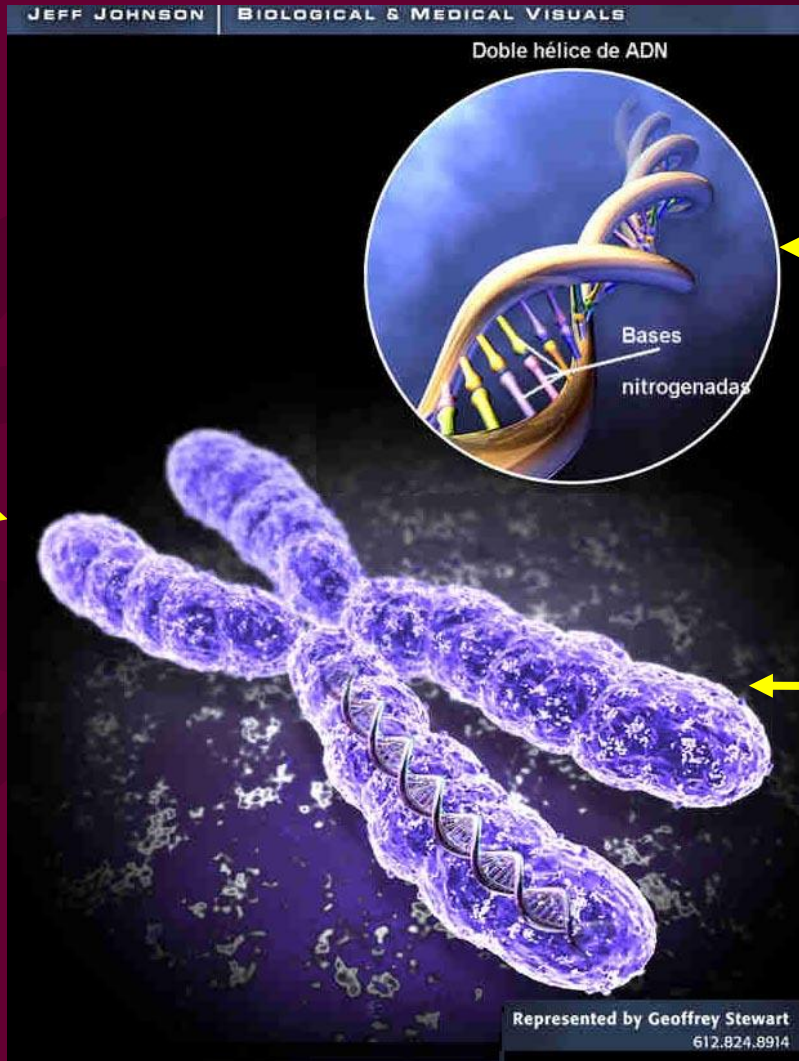
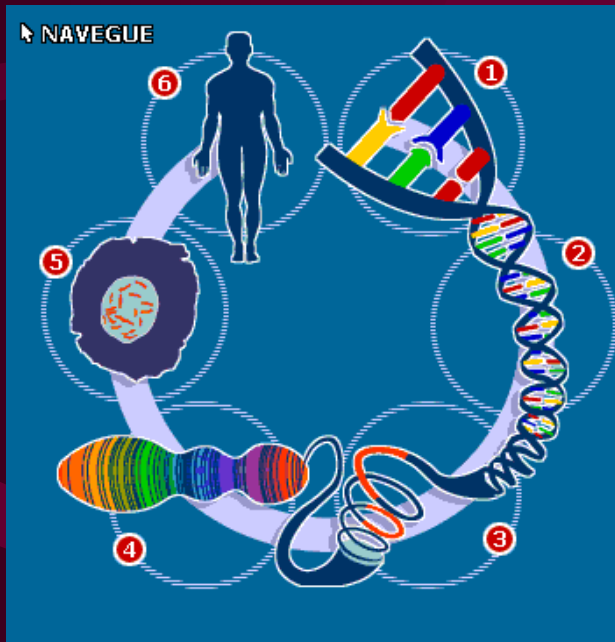
RESPUESTA INDIVIDUAL A DROGAS

- LAS BASES GENETICAS MOLECULARES PARA ESTE TIPO DE RASGOS SE EMPEZARON A ELUCIDAR EN LA DECADA DE LOS 80's
- CARACTERIZACION DEL GEN CYP2D6 QUE CODIFICA PARA LA ENZIMA DEBRISOQUINA HIDROXILASA QUE PARTICIPA EN EL METABOLISMO DE DROGAS

LOS GENES SON CONSIDERADOS FUNCIONALMENTE POLIMORFICOS CUANDO VARIANTES ALELICAS EXISTEN ESTABLEMENTE EN LA POBLACION, LO QUE PUEDE SER UN FACTOR DE CONTRIBUCION A LA ACTIVIDAD DE LA PROTEINA

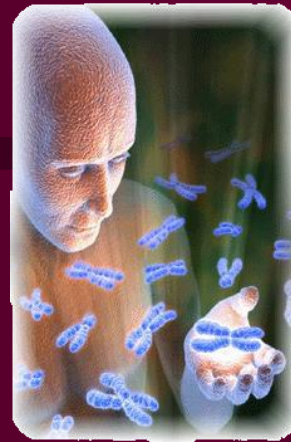


CROMOSOMAS



ADN

GENES



ACTGCCGTCACCTCAGTACTGGTCA
 TACTGCCGTCACCTCAGTACTGGTC
 AACTGCCGTCACCTCAGTACTGGTC
 ACTGCCGTCACCTCAGTACTGGTCA
 ACTGCCCTGCCGTCACCTCAGTACT
 GGTCAACTGCCGTCACCTCAGTACT
 GGTCAGTCCGTCACCTGTCACCTC
 AGTACTGGTCATCGTGCCGTCACCT
 CAGTACTGGTCATCGAGGCTTCAGT

BUENO, LICENCIADO. EL GENOMA HUMANO HA SIDO DESCIFRADO POR COMPLETO. ESTO MERECE UN BRINDIS: ¡POR EL MAPA DEL TESORO!... EH, QUISE DECIR... ¡POR EL MAPA DE LA VIDA!

SUPERGEN CORP.



© Trifera 2000

99.9%

% SIMILITUD ADN



30,000

GENES

99%



30,000

70%



30,000

60%

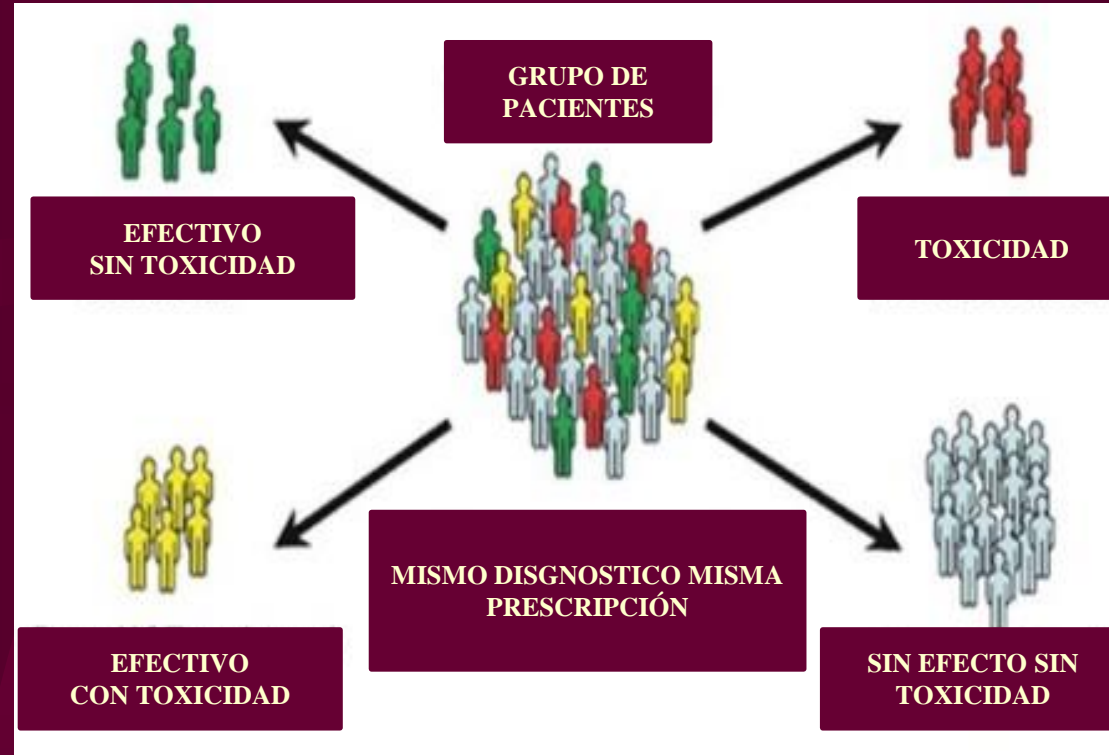


19,000



13,000

Con la genómica surge la Farmacogenómica cuyo propósito es la creación de fármacos a la medida para cada paciente y adaptados a sus condiciones genéticas, se espera sea la "clave" para crear drogas personalizadas que tengan una gran eficacia y efectos secundarios mínimos o sin toxicidad. De tal forma cuando se estudia la toxicología basado en genómica surge la Toxigenómica.



La experiencia clínica nos muestra una realidad distinta: medicamentos que funcionan bien en algunos pacientes, son ineficaces o causan reacciones adversas en otros, incluso mortales.

POLIMORFISMOS



ALELO A

AGACCTGCCCCAACGGCAAGCTTCATGGGC**CG**TGATGG**GC**ACCAAG**GG**GAGAAACCAGGTACGTGGCC



ALELO D

AGACCTGCCCCAACGGCAAGCTTCATGGGG**T**GTGATGG**GC**ACCAAGGGAGAAACCAGGTACGTGGCC



ALELO B

AGACCTGCCCCAACGGCAAGCTTCATGGGGTGTGATG**AC**ACCAAGGGAGAAACCAGGTACGTGGCC



ALELO C

AGACCTGCCCCAACGGCAAGCTTCATGGGGTGTGATGACACCAAG**A**GAGAAACCAGGTACGTGGCC

POLIMORFISMOS **SNP**

articles
A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms
The International SNP Map Working Group*
* A full list of authors appears at the end of this paper.

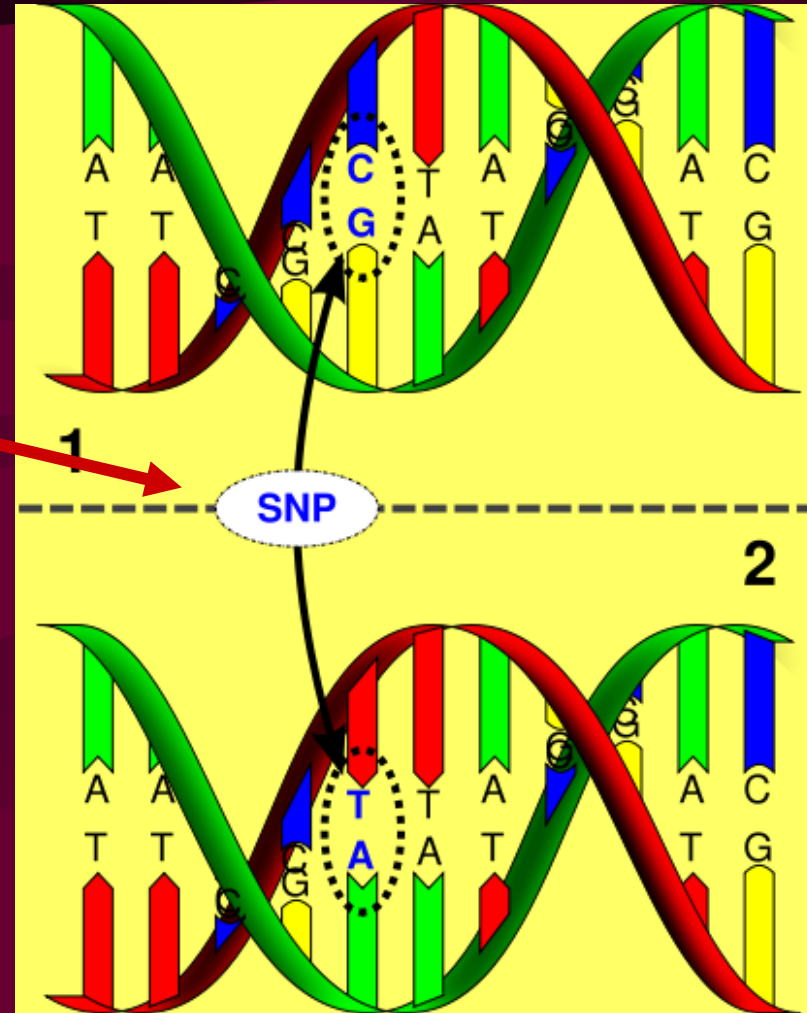
NATURE VOL 409 FEBRERO DEL 2001

2001

1,420,000

2011

4,000,000



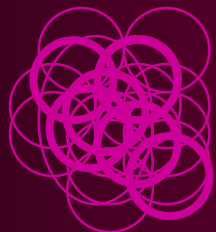
RESPUESTA INDIVIDUAL A DROGAS



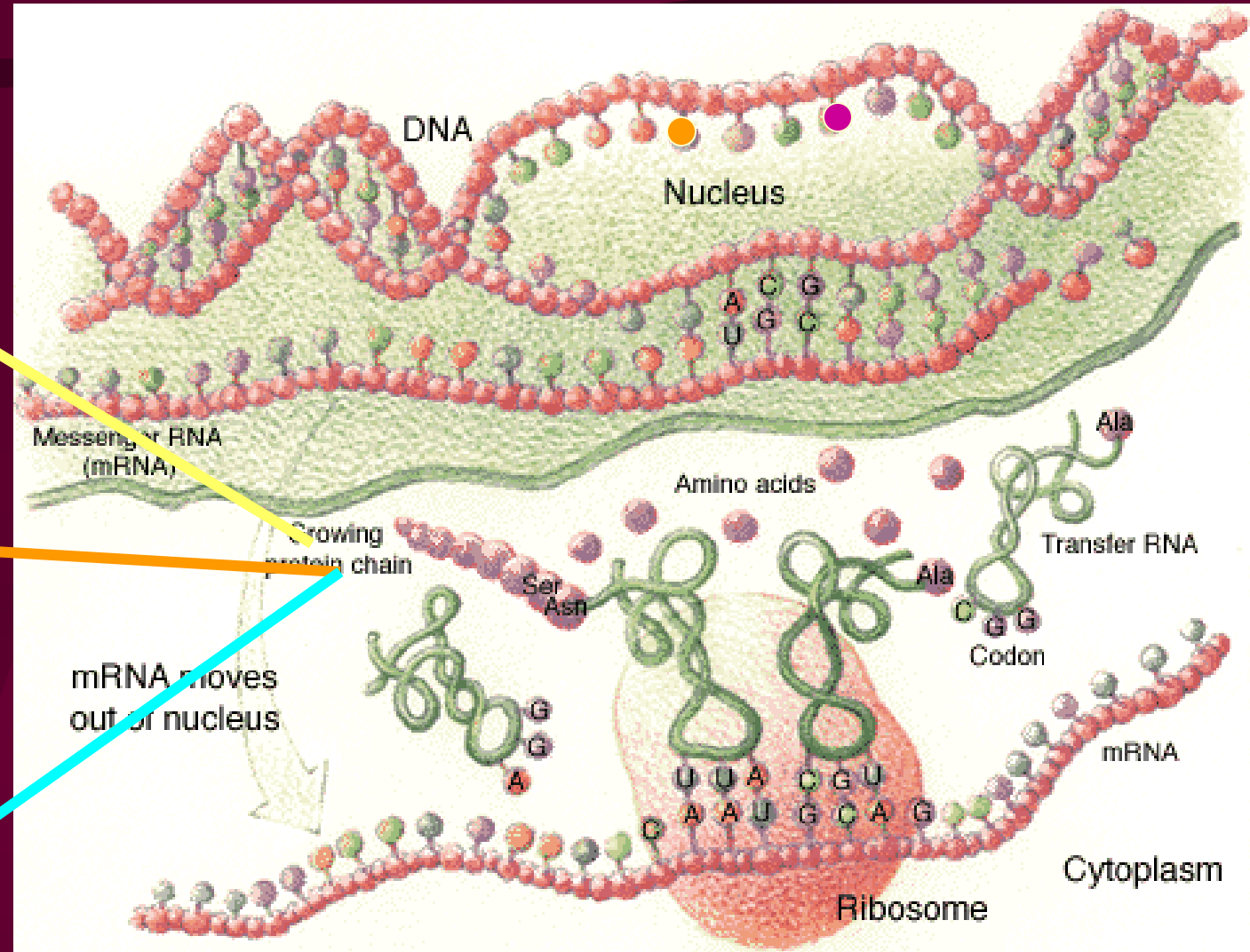
**ENZIMA
ACTIVA**



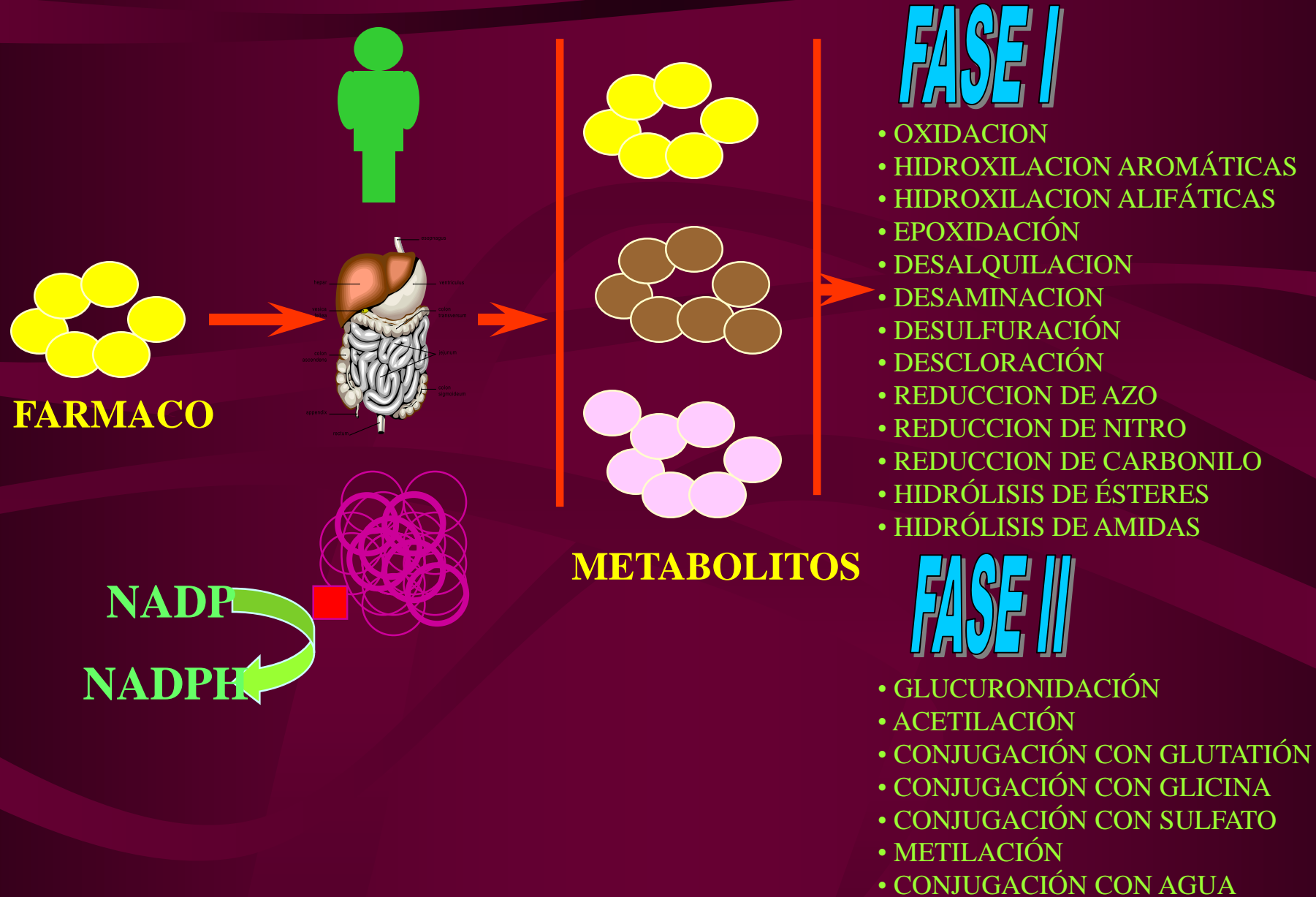
**ENZIMA
PARCIALMENTE
ACTIVA**



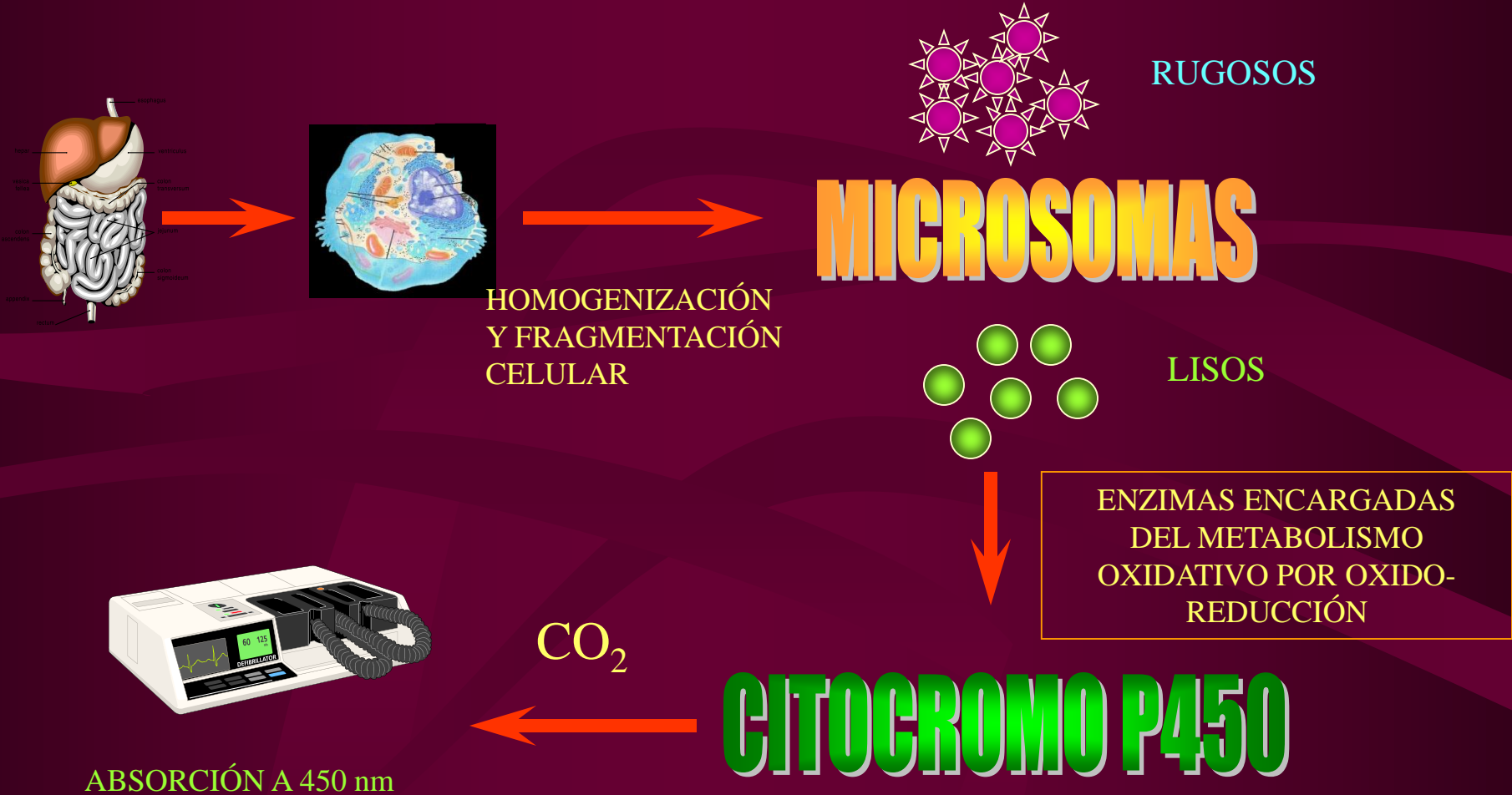
**ENZIMA
INACTIVA**



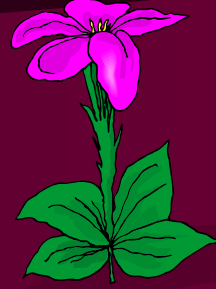
METABOLISMO DEL FÁRMACO O XENOBIÓTICO



ENZIMAS MICROSOMALES...

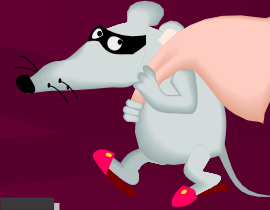


CITOCROMO P450...



Arabidopsis

350



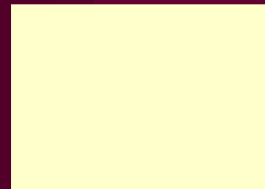
Ratón

65



M. tuberculosis

20



80



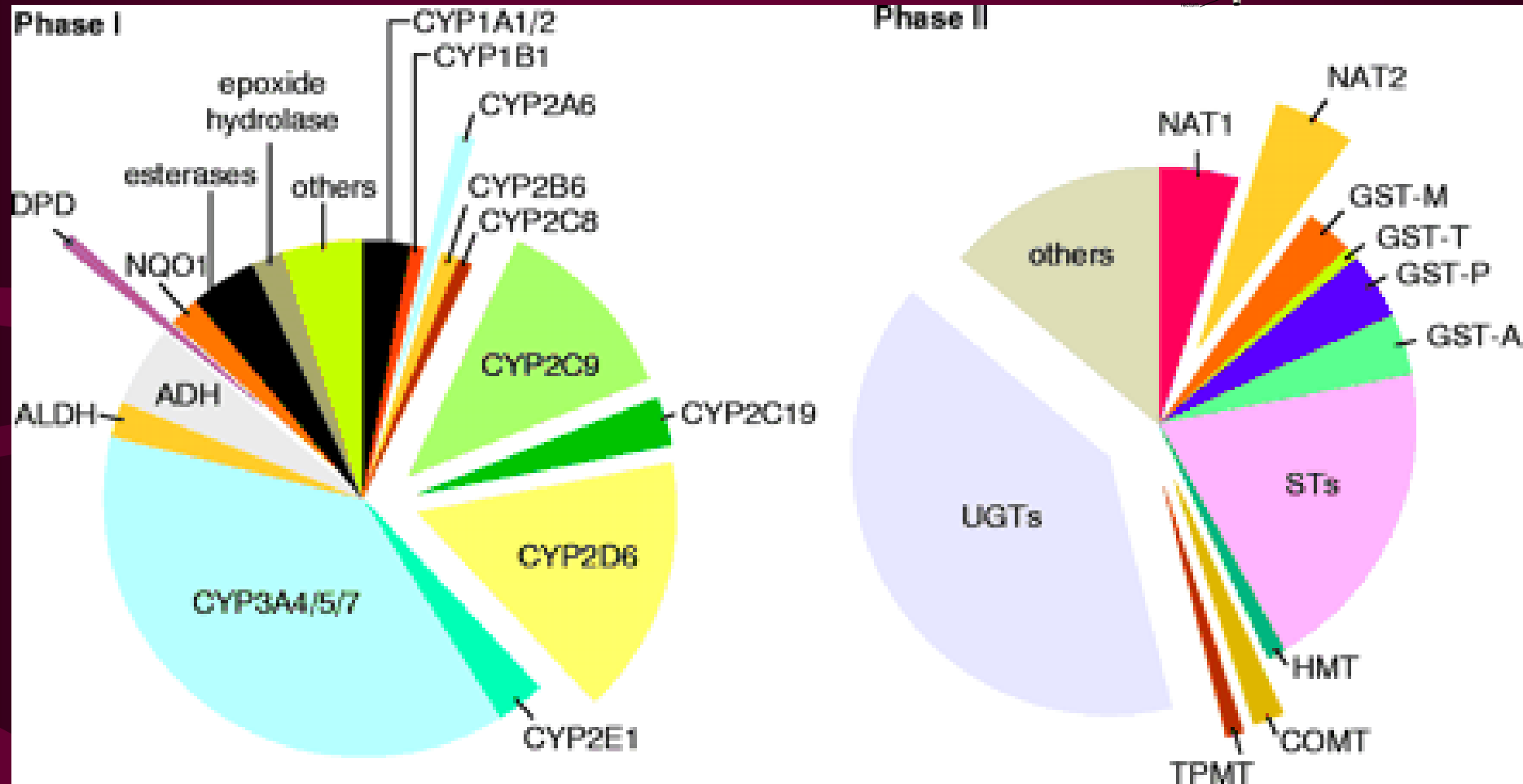
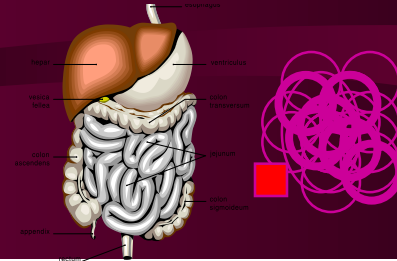
C. elegans

50



H. sapiens

ENZIMAS QUE PARTICIPAN EN EL METABOLISMO



FAMILIA (1-4)

CYP2D6*4

SUBFAMILIA
(A-F)

ISOENZIMA
(1-20)

VARIANTE
ALELICA

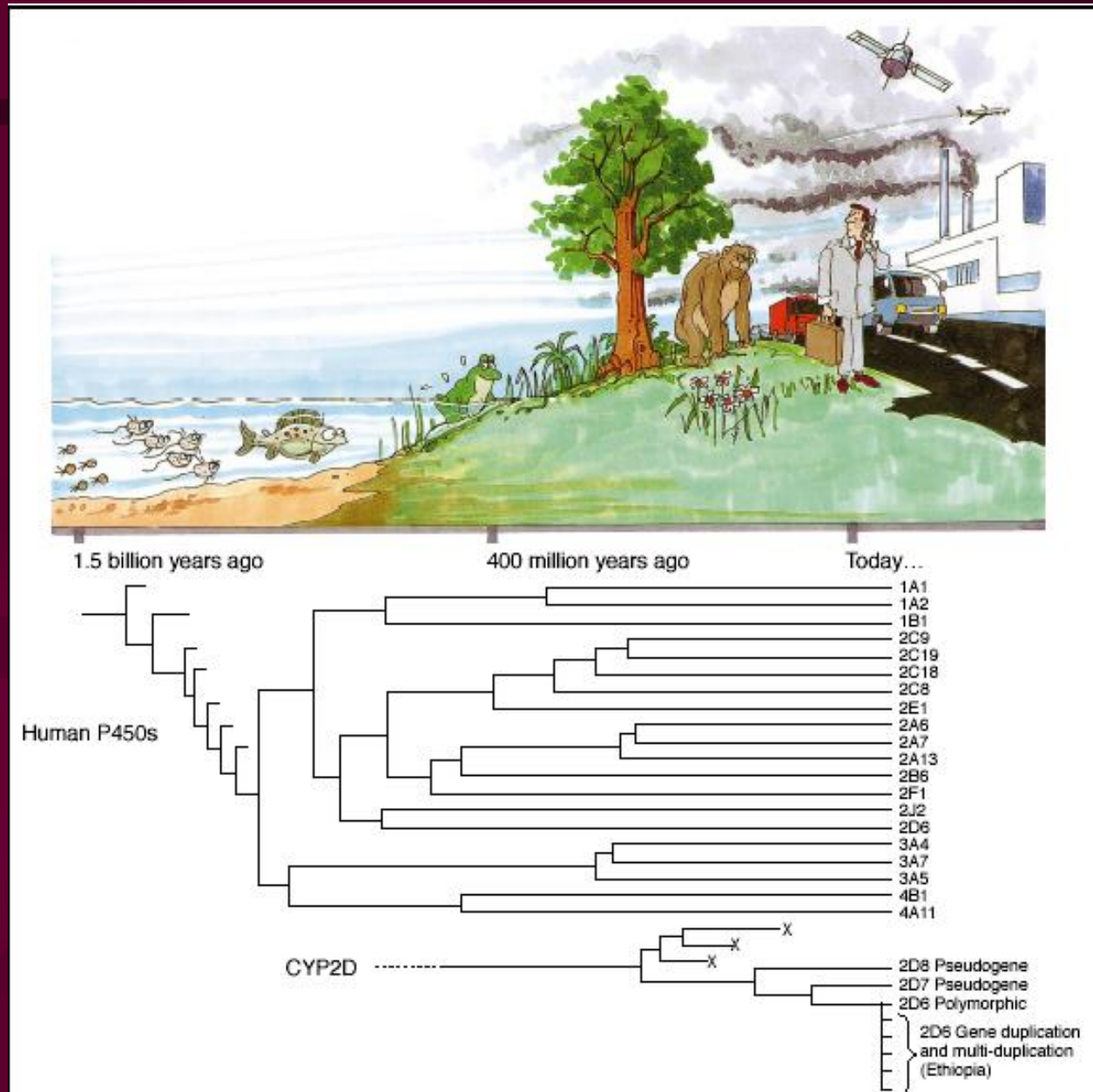


Fig. 4. Phylogenetic tree of the human *CYP1*–*CYP4* gene families in relation to evolutionary distance. Diversification of the P450 genes has taken place in response to environmental changes, with many P450 gene duplications having occurred at the evolutionary time when animals became terrestrial. The *CYP2D* phylogenetic tree is shown in detail at the bottom, demonstrating the evolution of the *CYP2D* locus. Among Ethiopians, alleles containing multiple *CYP2D6* gene copies have been frequently generated through recombination events in contrast to the *CYP2D* locus which has evolved in Caucasians. Artwork by Nils Peterson.

CYP2D6

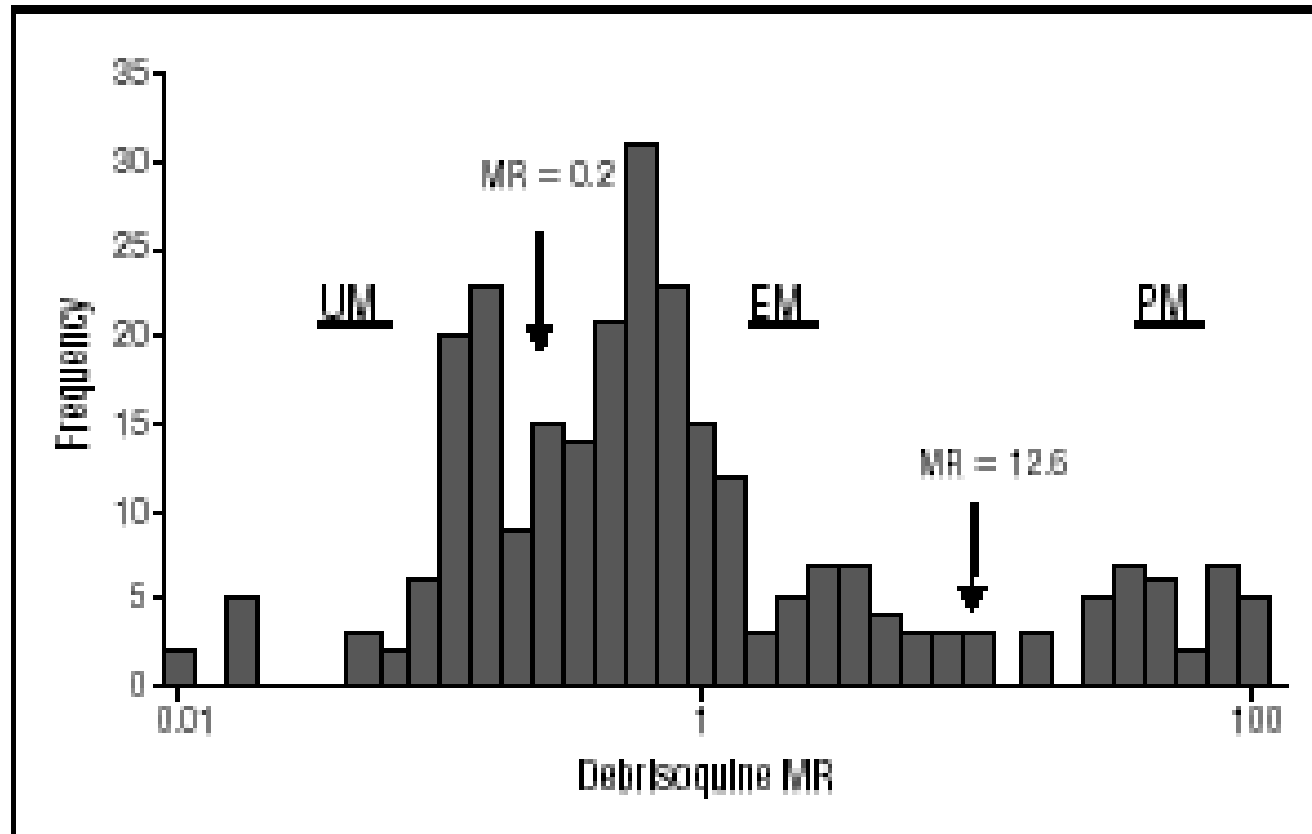
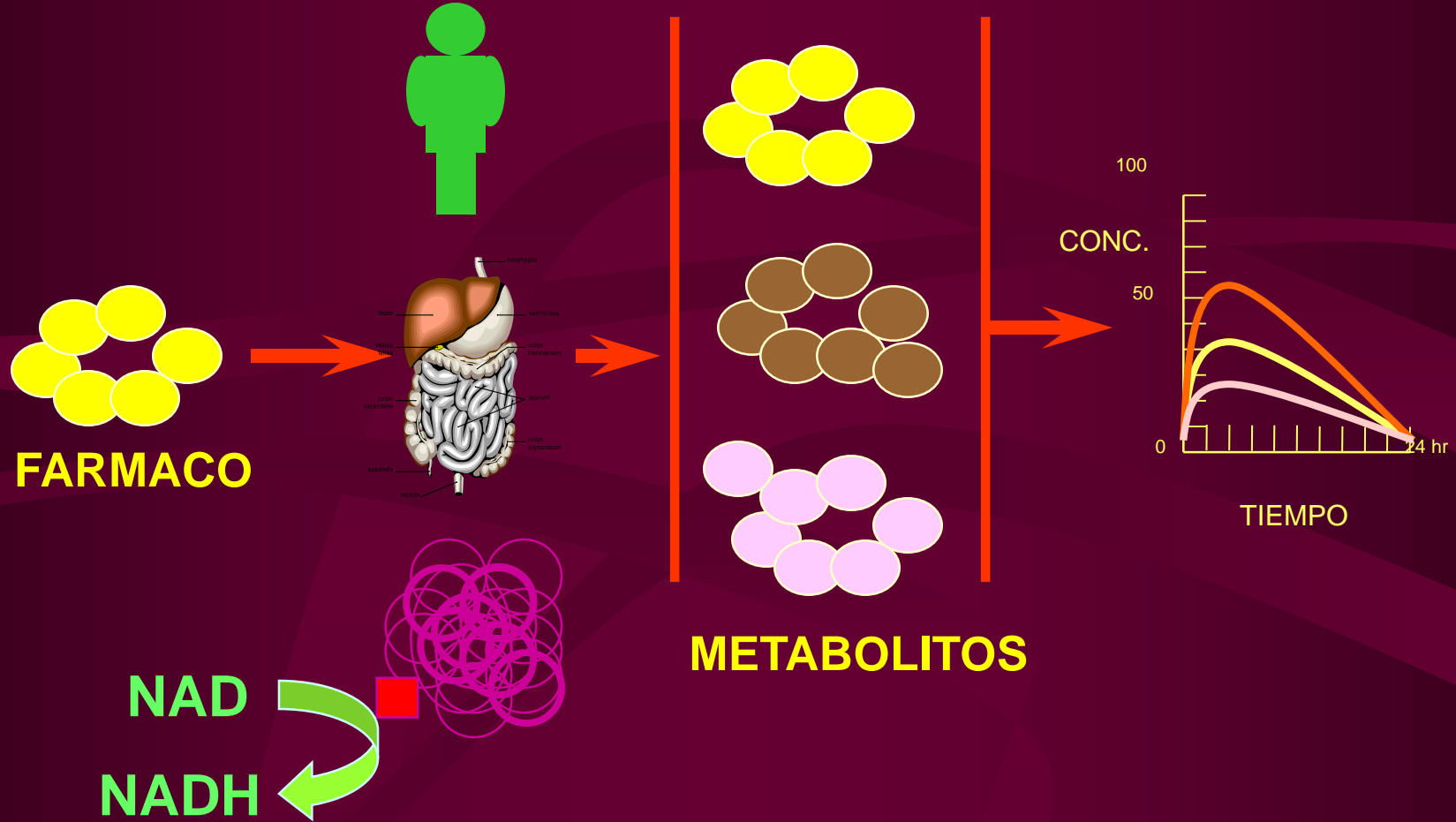


Figure 1. CYP2D6 metabolic index: distribution in a Swedish population (from [101]). MR – metabolic ratio; UM – ultra-rapid metabolizers; EM – extensive metabolizers (= normal); PM – Poor metabolizers.

METABOLISMO DE LAS DROGAS



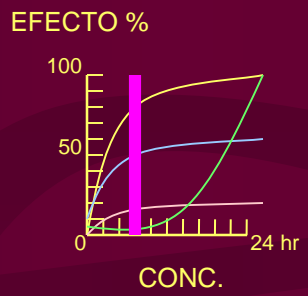
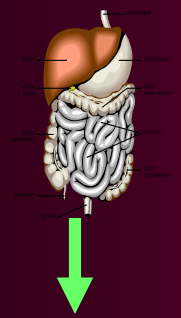
DETERMINANTES POLIGENICOS DEL EFECTO DE LA DROGA

GENOTIPOS DEL METABOLISMO DE LA DROGA

GENOTIPOS DEL RECEPTOR DE LA DROGA

EFEECTO %

TOXICIDAD %



75

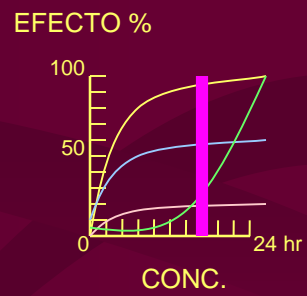
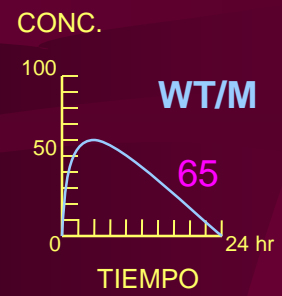
1

35

1

10

1



85

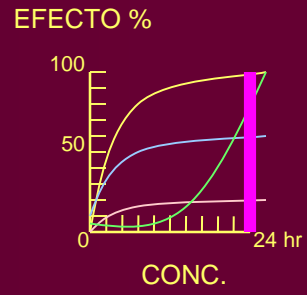
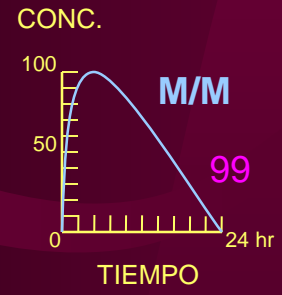
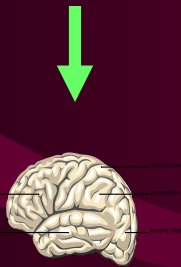
<10

45

<10

10

<10



95

>80

50

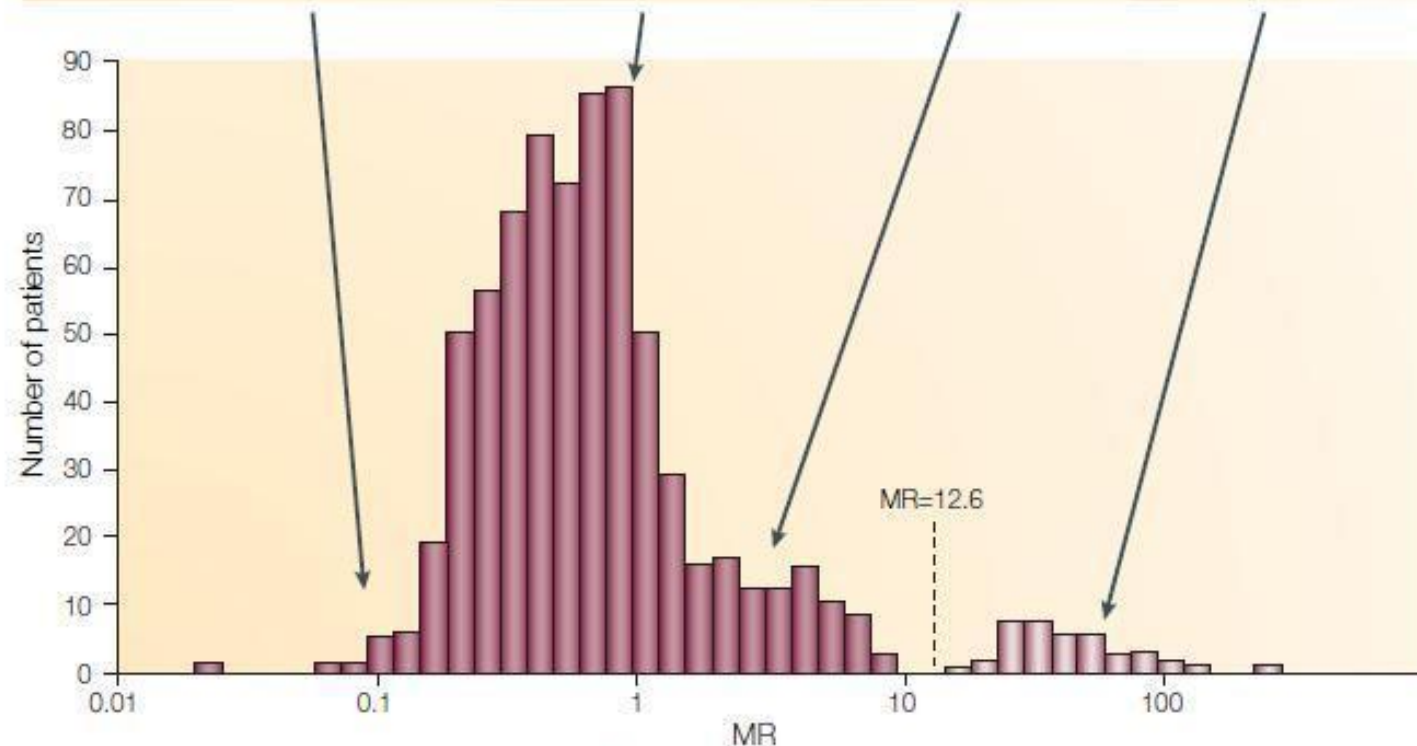
>80

10

>80

CYP2D6

Genotype				
Phenotype	Ultrarapid metabolizers	Extensive metabolizers	Intermediate metabolizers	Poor metabolizers
Frequency (Caucasians)	5–10%	80–65%	10–15%	5–10%



Nortriptyline dose requirement (mg day⁻¹)



ACTIVIDAD ENZIMATICA  **NORMAL** **REDUCIDA** **AUSENTE**

MULT	1	2A	2B	9	10	17	3	4	5	6	7	8	11	12
------	---	----	----	---	----	----	---	---	---	---	---	---	----	----

CAUCASICOS	1	34	28	5	2	2	0	1	17	5	1.5	<1	<1	<1	<1
ASIATICOS	2	23	20			51			1	6					
CHINOS	1	23	20			50			1						
JAPONESES	0	42	12			33				13					
KOREANOS	2	33	24			36				5					
AFRICANOS	2					4	6			2					
ETIOPIA	13					10	6		1.3	3					
ZIMBABWE							34		1.8	4					
AFROAMERICANOS	2					6	34	2	9	6					
NGAWBE *									17						
MEXICOAMERICANOS	1		23			7	1	1	10	2					



CYP2D6

CYP2D6*2.....MODIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD

CYP2D6*3.....NO HAY ENZIMA

CYP2D6*4.....NO HAY ENZIMA

CYP2D6*5.....NO HAY ENZIMA

CYP2D6*6.....NO HAY ENZIMA

CYP2D6*9.....ACTIVIDAD REDUCIDA

CYP2D6*10.....ENZIMA INESTABLE

CYP2D6*17.....AFINIDAD REDUCIDA A SUSTRATOS

FASE 1



ANFETAMINA



FENOTIPO

0-10 HRS



DETERMINACIÓN
ANALÍTICA

DETECCIÓN DEL CONSUMO DE DROGAS EN VACACIONES DE AGOSTO 2003.



HOMBRES
18—65 AÑOS DE EDAD
0—12 HRS (ORINA)

TRANSPORTE



POSITIVOS A
ANFETAMINAS

N= 121

INDIVIDUOS POSITIVOS (CONCENTRACION EN ORINA)

N=109 (90%)

ANFETAMINA

NG/ML	# INDIVIDUOS
1000-5000	19
5000-10000	44
10000-20000	33
20000-50000	12
>50000	1

N=12 (10%)

METANFETAMINA

NG/ML	# INDIVIDUOS
1000-5000	1
5000-10000	4
10000-20000	4
20000-50000	2
>50000	1

Journal of Analytical Toxicology, 31 (2007) 31-36

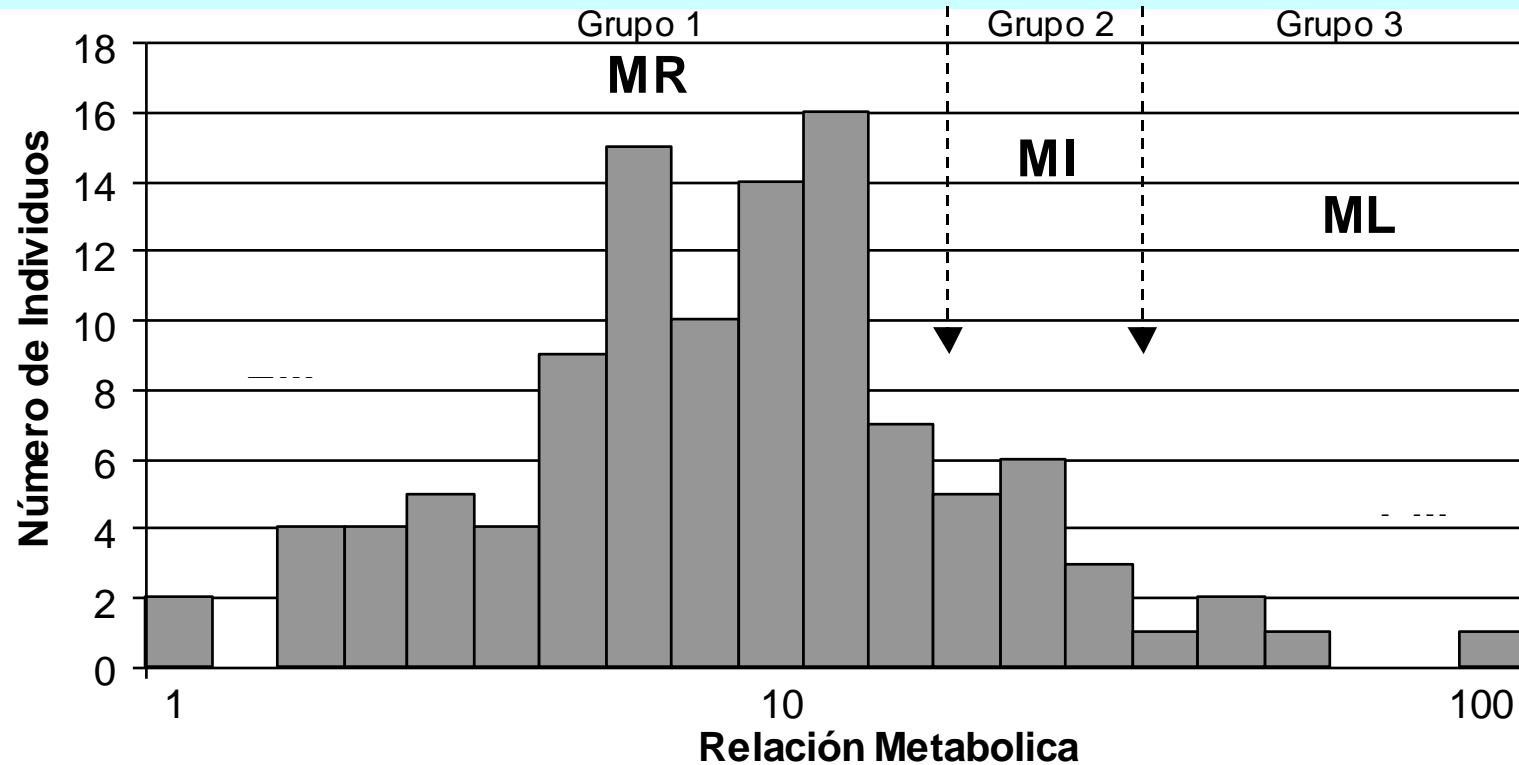
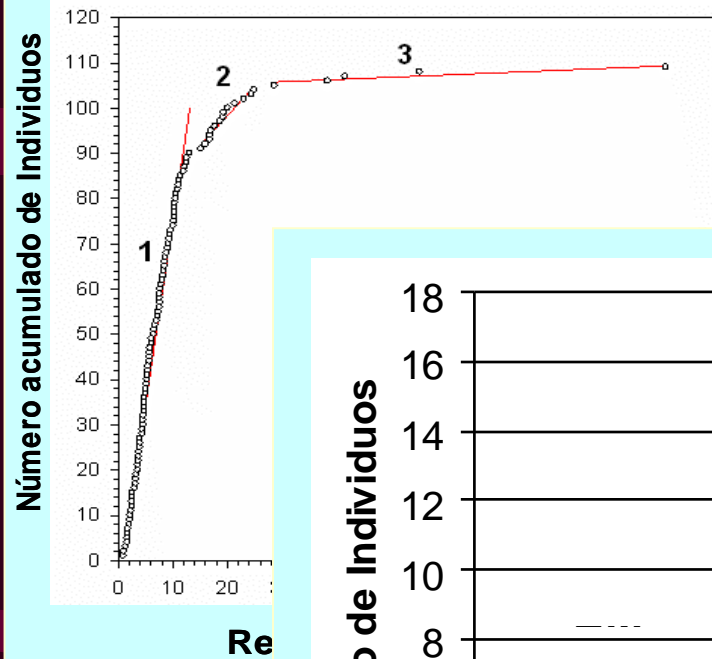
CALCULO DEL INTERVALO DE CONCENTRACIÓN EN SANGRE

Journal of Analytical Toxicology, 27 (2003) 65-71

> 90 % INDIVIDUOS

500 -- 2500 NG/ML

N=109



Encontramos que el metabolismo de la anfetamina presenta una curva de distribución similar a la de otros sustratos de CYP2D6. Siendo la primera vez que se obtiene para este sustrato las diferencias individuales en el fenotipo en humanos.

VARIABILIDAD GENÓMICA EN MEXICO



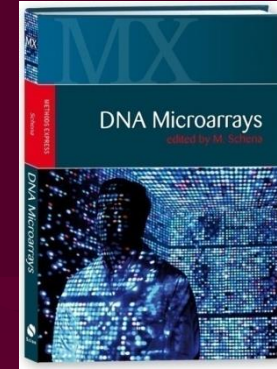
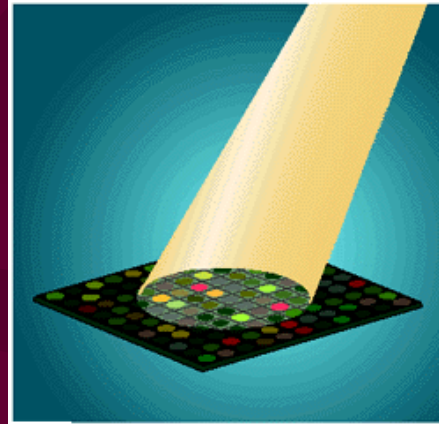
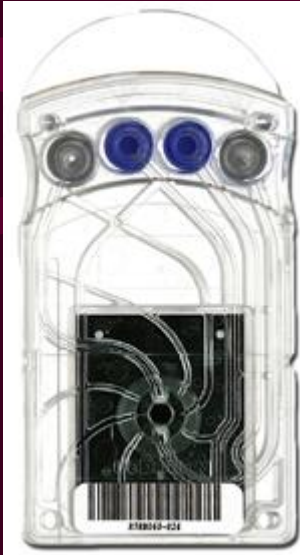
La población mexicana moderna resulta de una mezcla de más de 65 grupos étnicos con grupos Españoles, resultando en una estructura genética única con patrones específicos de susceptibilidad y resistencia a enfermedades comunes

Science 2003. 300(5617): 295



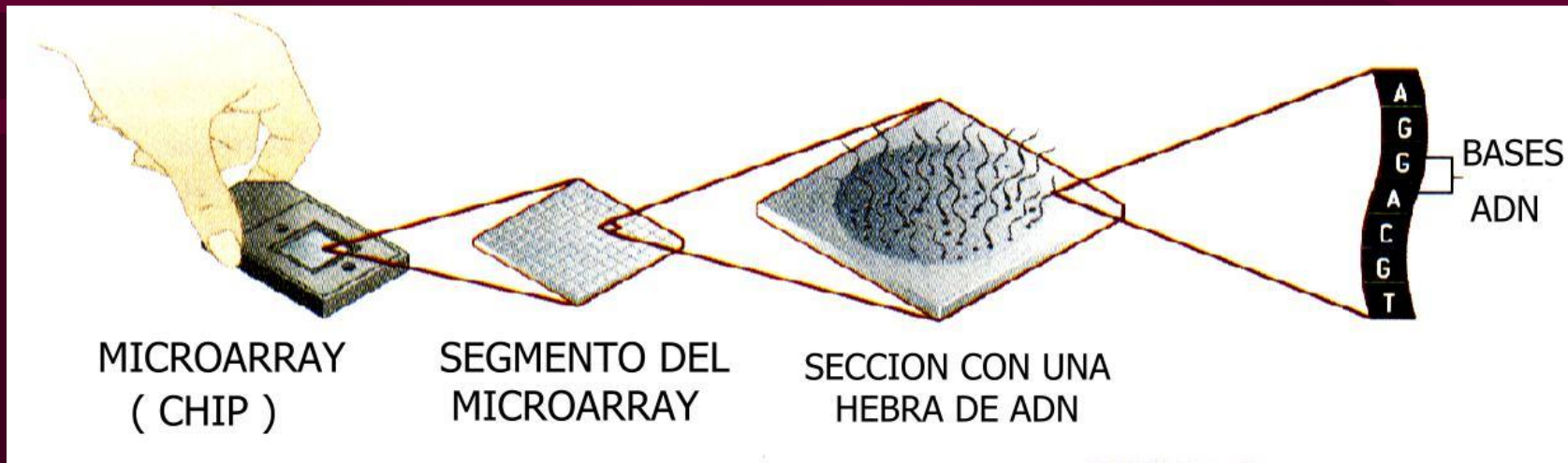
¿HACIA DONDE VAMOS?

MICROARRAYS O GEN CHIPS

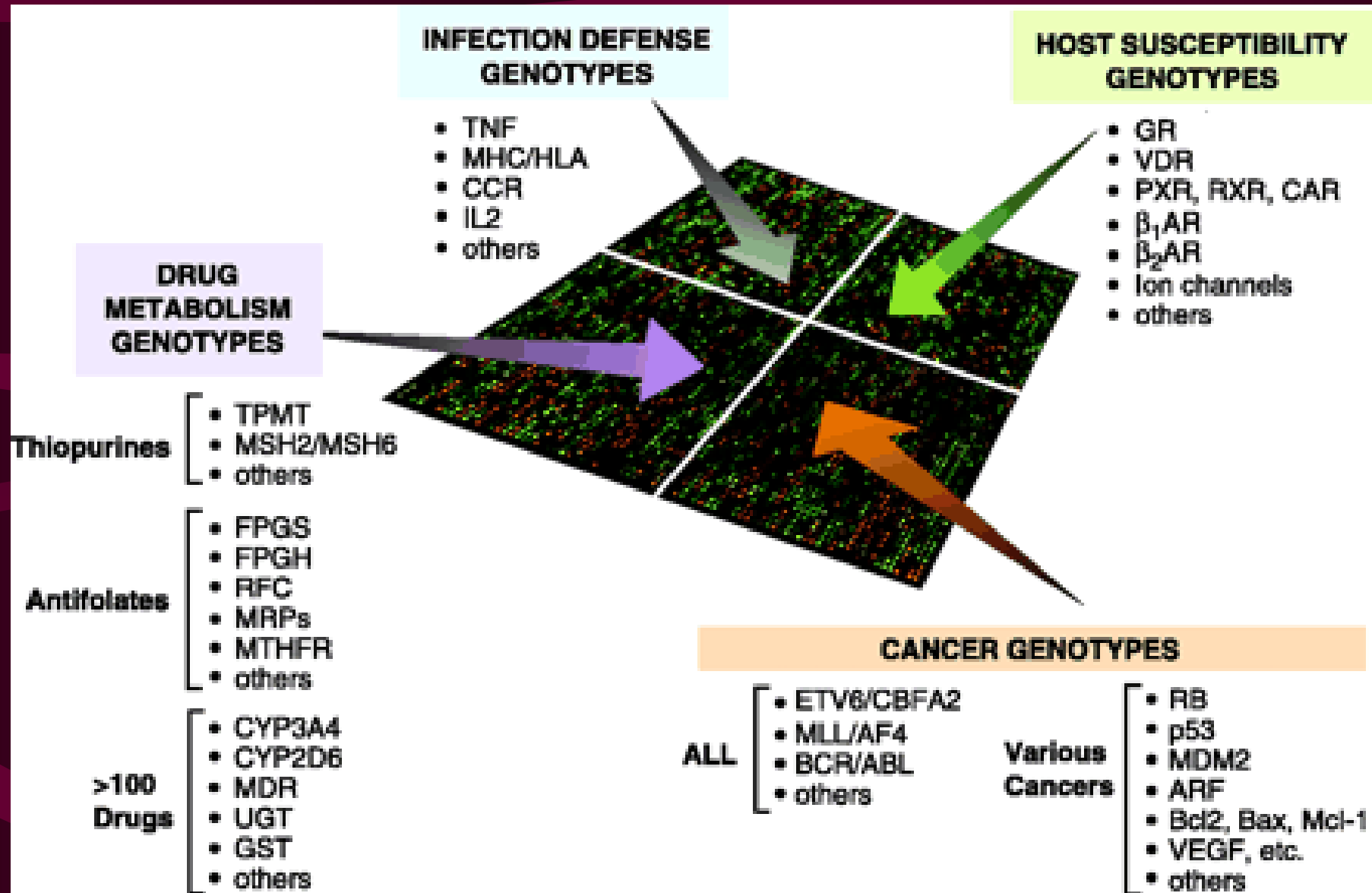


MICROARRAY

DNA microarrays son también conocidos como Gen Chips, estos chips pueden realizar miles de reacciones moleculares en paralelo. Los Chips pueden ser designados para detectar genes específicos o medir la actividad de los genes en diversos tipos de muestra.



MICROARRAY

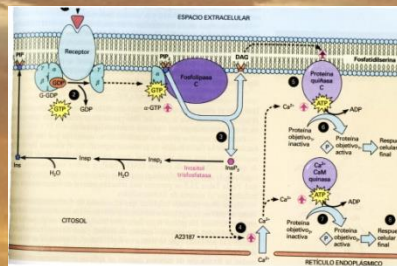




AmpliCHIP CYP450

- PRIMER “GENCHIP” APROBADO POR FDA EN DIC-2004.
- EVALUA EL GENOTIPO DE CYP2D6 Y CYP2C19.
- UTILIZADO EN PACIENTES PSIQUIATRICOS.
- EMPLEADO CON PACIENTES EN CLINICA MAYO, EUA.

TOXICOGENOMICA



MECANISMO DE ACCIÓN

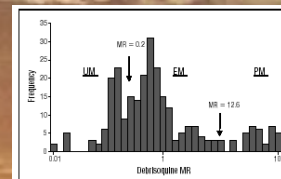


Figure 1. CYP2D6 metabolic index: distribution in a Swedish population (from [10]). MR – metabolic ratio; UM – ultra-rapid metabolizers; EM – extensive metabolizers (= normal); PM – Poor metabolizers.

FENOTIPO

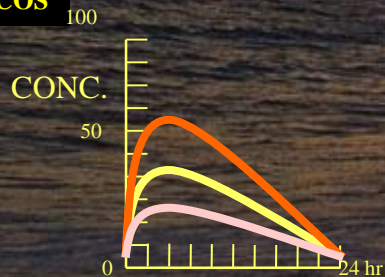


FRECUENCIAS POBLACIONALES

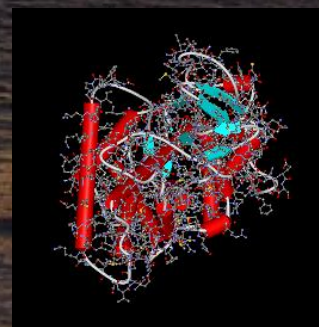


DROGAS O FÁRMACOS

ASOCIACIONES



FARMACOCINÉTICA



IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS



IDENTIFICACIÓN DEL GEN

VISION INTEGRAL DE LA DETECCION DEL CONSUMO DE DROGAS DE ABUSO

- ❖ **TENDENCIAS DE CONSUMO**
- ❖ **VARIABILIDAD INDIVIDUAL**
- ❖ **TOXICOGENOMICA**
- ❖ **FARMACOLOGIA DROGAS DE ABUSO**
- ❖ **DETECCION DEL CONSUMO**
- ❖ **PRUEBAS ANTIDOPING**
- ❖ **ADULTERANTES**
- ❖ **CADENA DE CUSTODIA**
- ❖ **PRUEBAS PRESUNTIVAS**
- ❖ **PRUEBA CONFIRMATORIA**
- ❖ **DICTAMEN FINAL**

Dr.en C. Elias Miranda González