

Cuando los alelos NAT2\*5A y NAT2\*4 estaban en la misma muestra se identificaron digiriendo el fragmento de 578 pb con las enzimas *Kpn* I y *Msp* A1 I (figuras 19 y 20), para determinar que los polimorfismos T341C y C481T que integran el alelo NAT2\*5A estaban juntos. Se esperaba que la enzima *Kpn* I cortara al alelo NAT2\*4 en dos fragmentos de 421 pb y 157 pb, debido a que no contenía el polimorfismo C481T y al alelo NAT2\*5A por tener el polimorfismo no lo cortaría y quedaría de 578 pb. Pero si el polimorfismo T341C se encontraba en este alelo, la enzima *Msp* A1 I debería cortar el fragmento de 578 pb que no cortó la enzima *Kpn* I en dos fragmentos de 559 pb y 19 pb.

Para identificar el alelo NAT2\*5C del alelo NAT2\*4 se digirió el fragmento de 578 pb con la enzima *Msp* A1 I (figura 19, parte inferior), donde se esperaba que al alelo NAT2\*5C lo cortara en dos fragmentos de 559 pb y 19 pb y al alelo NAT2\*4 no lo cortara por no tener el polimorfismo T341C (figura 24).

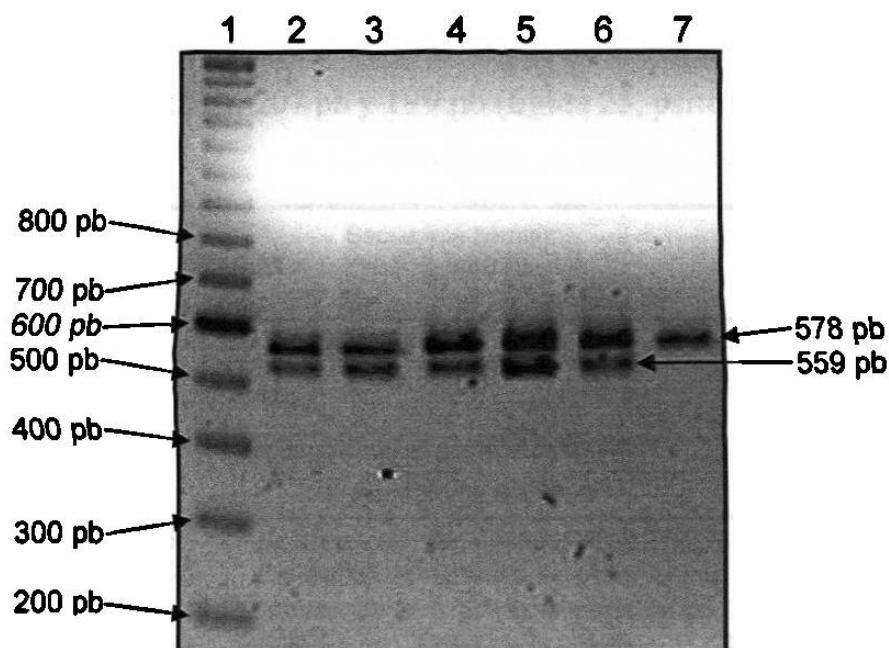
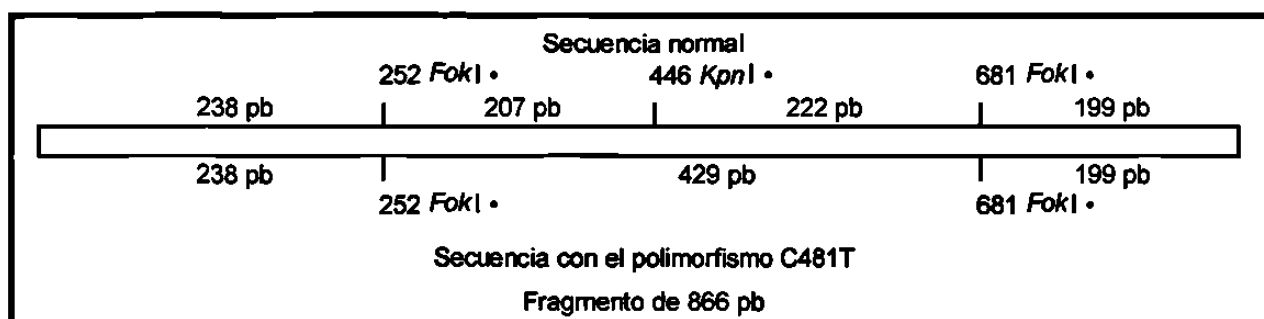


Figura 24. Digestión con la enzima *Msp* A1 I (T341C). Gel de agarosa al 1.5% donde se muestra en el carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb; de los carriles 2-6: Sujetos con el polimorfismo donde se presentan los fragmentos de 559 pb y 19 pb (no se ve en el gel), el fragmento de 578 pb es el alelo NAT2\*4; y en el carril 7: producto amplificado sin digerir.

Después se recuperó la banda de 559 pb del gel (figuras 21 y 24) con mucho cuidado de no traerse la bande de 578 pb y se reamplificó el fragmento de 119 pb como se ve en la figura 22, en el cual se buscaba el polimorfismo A803G con la enzima *Dde* I (figura 23), donde se esperaban los fragmentos de 97 pb y 22 pb. Por lo tanto se demostró que estaban los polimorfismos T341C y A803G juntos formando el alelo NAT2\*5C.

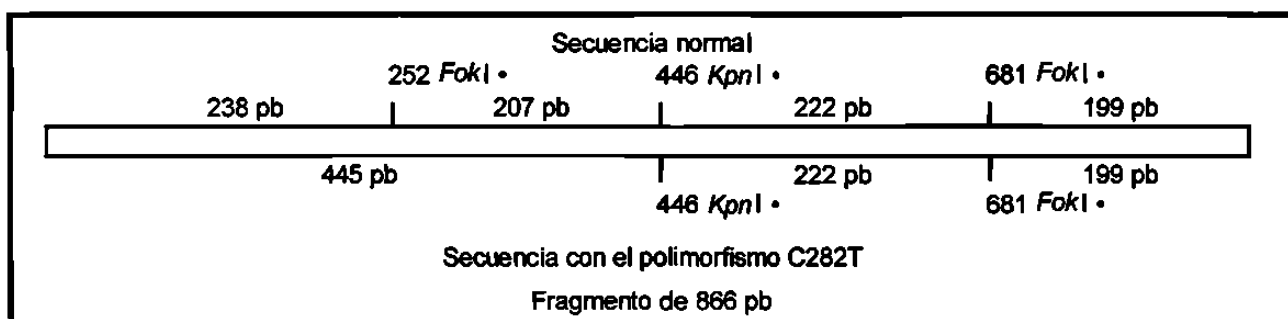
Para identificar los alelos NAT2\*6A y NAT2\*5B en individuos heterocigotos para estos alelos, se realizó primero la identificación del alelo NAT2\*5B, la cual ya se mencionó anteriormente. Para comprobar que los polimorfismos C282T y G590A estaban formando el alelo NAT2\*6<sup>a</sup>, se realizaron dos dobles digestiones del fragmento de 866 pb, una doble digestión fue con las enzimas *Kpn* I para identificar el polimorfismo C481T y con *Fok* I para identificar el polimorfismo C282T. Esta doble digestión se hizo para demostrar que ambos polimorfismos se encontraban en diferentes alelos. La doble digestión del fragmento de 866 pb de un alelo normal genera cuatro fragmentos de 238 pb, 222 pb, 207 pb y 199 pb (figura 25, parte superior).



**Figura 25.** Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Fok* I (C282T) y *Kpn* I (C481T), para identificar el polimorfismo C481T. En ambas secuencias se observa que al no tener el polimorfismo C282T la enzima *Fok* I corta el fragmento de 866 pb en la posición de 252 pb, y además, en ambas secuencias existe un sitio de corte para la enzima *Fok* I en la posición de 681 pb. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no encontrarse el polimorfismo C481T la enzima *Kpn* I corta este fragmento. En la secuencia con el polimorfismo C481T (parte inferior), se observa que al encontrarse el polimorfismo C481T la enzima *Kpn* I no corta este fragmento.

Como se muestra en el gel de la figura 27 y el esquema de la figura 25, el fragmento de 866 pb que contenía el polimorfismo C481T del alelo NAT2\*5B se digirió con las enzimas *Fok* I y *Kpn* I, esperando tres fragmentos de 429 pb, 238 pb y 199 pb. El fragmento de 429 pb se genera porque la enzima *Kpn* I pierde su sitio de corte debido al polimorfismo C481T.

En la figura 26 se muestra que el otro fragmento donde está el polimorfismo C282T del alelo NAT2\*6A se esperaba que las enzimas lo cortaran también en tres fragmentos de 445 pb, 222 pb y 199 pb, el fragmento de 445 pb se genera porque la enzima *Fok* I pierde su sitio de corte debido al polimorfismo C282T.



**Figura 26.** Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Fok* I (C282T) y *Kpn* I (C481T), para identificar el polimorfismo C282T. En ambas secuencias se observa que al no encontrarse el polimorfismo C481T la enzima *Kpn* I corta este fragmento, y además, en ambas secuencias existe un sitio de corte para la enzima *Fok* I en la posición de 681 pb. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no tener el polimorfismo C282T la enzima *Fok* I corta el fragmento de 866 pb en la posición de 252 pb. En la secuencia con el polimorfismo C282T (parte inferior), se observa que al tener el polimorfismo C282T la enzima *Fok* I no corta el fragmento de 866 pb en la posición de 252 pb.

En el carril 12 del gel de la figura 27 se corrió una muestra que contenía los alelos NAT2\*4 y NAT2\*6A para demostrar que la banda de 429 pb queda arriba de la banda de 445 pb. En el alelo NAT2\*4 se obtuvieron los cuatro fragmentos esperados de 238 pb, 222 pb, 207 pb y 199 pb cuando se digirió con las enzimas *Kpn* I y *Fok* I. Como ya se mencionó, cuando en el alelo con el polimorfismo C282T se digirió se obtienen tres fragmentos de 445 pb, 222 pb y 199 pb, y como estos alelos solamente generan la

banda de 445 pb al digerirse, se puede ver en el gel de la figura 27 que por alguna razón la banda de 429 pb corre mas arriba que la banda de 445 pb. La banda de 429 pb siempre corre de la misma manera (figura 11).

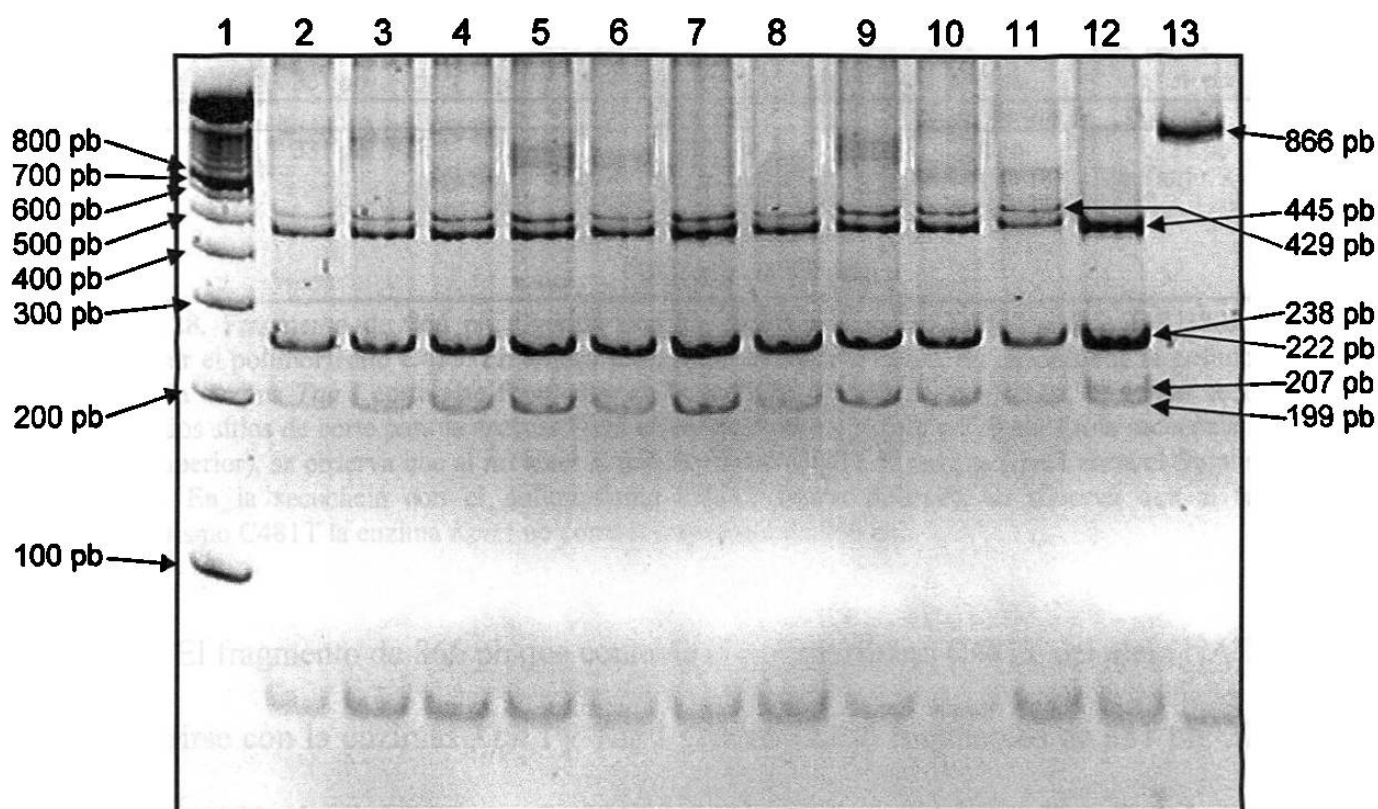
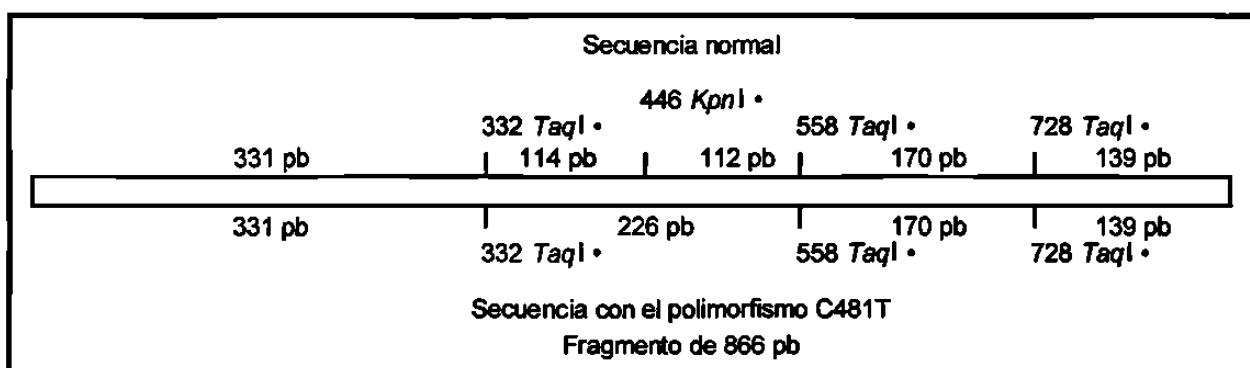


Figura 27. Digestión con las enzimas *Fok* I (C282T) y *Kpn* I (C481T). Gel de poliacrilamida al 12% donde se muestra en el carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb; de los carriles 2-11: Sujetos con los polimorfismos en diferentes alelos donde el alelo con el polimorfismo C282T presentan tres fragmentos de 445 pb, 222 pb y 199 pb y el alelo con el polimorfismo C481T también presenta tres fragmentos de 429 pb, 238 pb y 199 pb; en el carril 12: Sujeto con el alelo normal donde se presentan cuatro bandas de 238 pb, 235 pb, 207 pb y 199 pb y el alelo con el polimorfismo C282T donde se presentan tres fragmentos de 445 pb, 222 pb y 199 pb; y en el carril 13: Producto amplificado sin digerir.

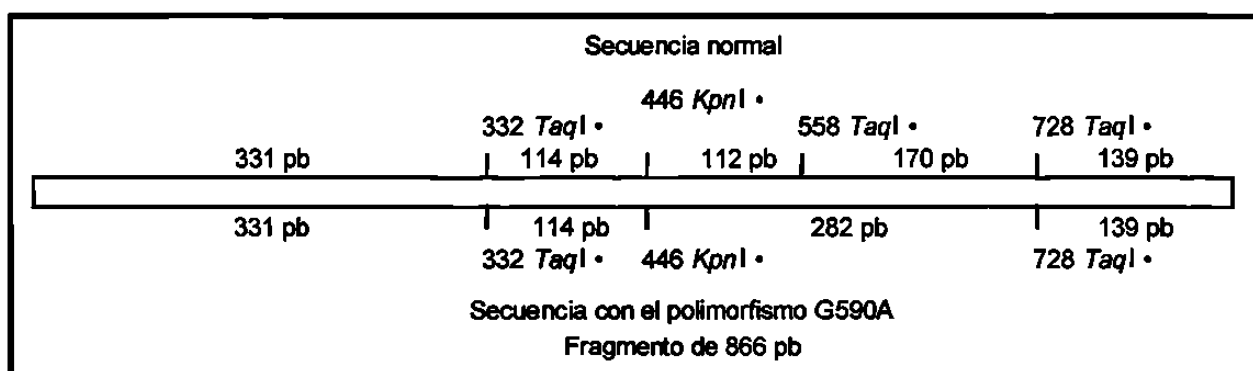
Al presentarse los dos fragmentos de 445 pb y 429 pb en la misma muestra se comprueba que los polimorfismos C282T y C481T están en diferentes alelos y por lo tanto el polimorfismo C282T pertenece al alelo NAT2\*6A. Se continuó con el polimorfismo G590A para comprobar que también pertenece al alelo NAT2\*6A. Para esto se realizó otra doble digestión con las enzimas *Kpn* I y *Taq* I (figura 30) en el fragmento de 866 pb para comprobar que los polimorfismos C481T y G590A estaban en

diferentes alelos. La doble digestión del fragmento de 866 pb de un alelo normal genera cinco fragmentos de 331 pb, 170 pb, 139 pb, 114 pb y 112 pb (figura 28).



**Figura 28.** Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Kpn I* (C481T) y *Taq I* (G590A), para identificar el polimorfismo C481. En ambas secuencias se observa que al no encontrarse el polimorfismo G590A la enzima *Taq I* corta este fragmento en la posición de 558 pb, y además, en ambas secuencias existen dos sitios de corte para la enzima *Taq I* en las posiciones 332 pb y 728 pb. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no tener el polimorfismo C481T la enzima *Kpn I* corta el fragmento de 866 pb. En la secuencia con el polimorfismo C481T (parte inferior), se observa que al tener el polimorfismo C481T la enzima *Kpn I* no corta el fragmento de 866 pb.

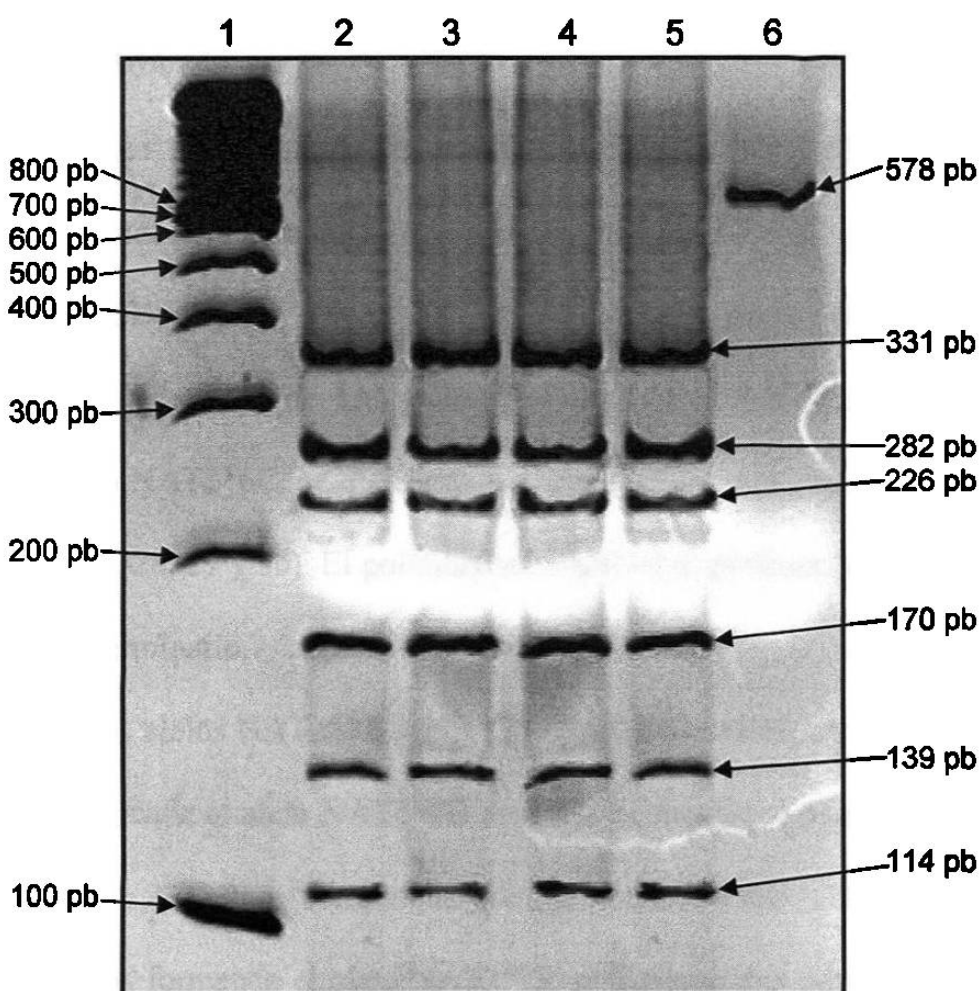
El fragmento de 866 pb que contenía el polimorfismo C481T del alelo NAT2\*5B al digerirse con la enzimas *Kpn I* y *Taq I* generó cuatro fragmentos de 331 pb, 226 pb, 170 pb y 139 pb, el fragmento de 226 pb se generó porque la enzima *Kpn I* pierde el sitio de corte al presentarse el polimorfismo C481T (figura 28).



**Figura 29.** Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Kpn I* (C481T) y *Taq I* (G590A), para identificar el polimorfismo G590A. En ambas secuencias se observa que al no tener el polimorfismo C481T la enzima *Kpn I* corta el fragmento de 866 pb, y además, en ambas secuencias existen dos sitios de corte para la enzima *Taq I* en las posiciones 332 pb y 728 pb. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no encontrarse el polimorfismo G590A la enzima *Taq I* corta este fragmento en la posición de 558 pb. En la secuencia con el polimorfismo G590A (parte inferior), se observa que al encontrarse el polimorfismo G590A la enzima *Taq I* no corta este fragmento en la posición de 558 pb.

En el otro fragmento con el polimorfismo G590A del alelo NAT2\*6A se esperaban de la digestión también cuatro fragmentos de 331 pb, 282 pb, 139 pb y 114 pb (figura 29, parte inferior). El fragmento de 282 pb se formó al perderse el sitio de corte para la enzima *Taq* I al estar presente el polimorfismo G590A.

Al estar presentes los dos fragmentos de 282 pb y 226pb en la misma muestra se comprueba que los polimorfismos C481T y G590 están en diferentes alelos y por lo tanto el polimorfismo G590A pertenece al alelo NAT2\*6A.



**Figura 30.** Digestión con las enzimas *Kpn* I (C481T) y *Taq* I (G590A). Gel de poliacrilamida al 12% donde se muestra en el carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb; de los carriles 2-5: Sujetos con los polimorfismos en diferentes alelos donde el alelo con el polimorfismo C481T presentan cuatro fragmentos de 331 pb, 226 pb, 170 pb y 139 pb y el alelo con el polimorfismo G590A también presenta cuatro fragmentos de 331 pb, 282 pb, 139 pb y 114 pb; y en el carril 6: Producto amplificado sin digerir.

Como se puede observar en el gel de la figura 30, los dos polimorfismos C282T y G590A no estaban en el alelo NAT2\*5B donde se encuentra el polimorfismo C481T, por lo tanto se encuentran juntos formando el alelo NAT2\*6A.

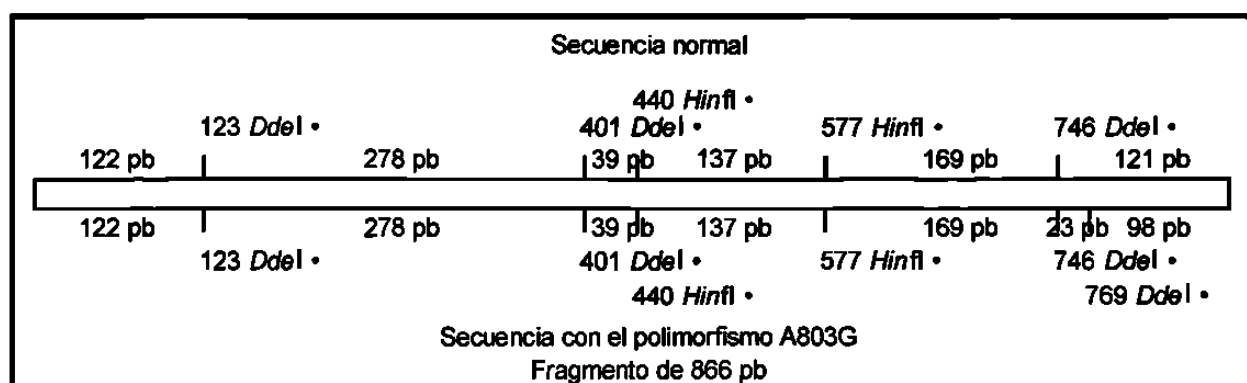
Cuando el individuo era heterocigoto para los alelos NAT2\*6B y NAT2\*5B, se realizó primero la identificación del alelo NAT2\*5B, la cual ya se mencionó anteriormente (figuras 19, 20, 21, 22 y 23). Para comprobar que el polimorfismo G590A que pertenece al alelo NAT2\*6B no se encontraba junto con los polimorfismos de NAT2\*5B, se realizó el mismo procedimiento para determinar este mismo polimorfismo en el alelo NAT2\*6A (figuras 28, 29 y 30).

Al encontrar en la muestra los alelos NAT2\*6C y NAT2\*5B se identificaron haciendo digestiones para comprobar que los polimorfismos T341C y C481T estaban en el alelo NAT2\*5B (figuras 19 y 20), de la misma manera como se mencionó anteriormente. Para saber que los polimorfismos C282T y G590A se encontraban formando el alelo NAT2\*6C, se digirieron de la misma manera que el alelo NAT2\*6A (figura 25, 26, 27, 28, 29 y 30). El polimorfismo A803G al pertenecer a ambos alelos no fue necesario determinarlo.

Cuando los alelos NAT2\*7B y NAT2\*5B se encontraban en la misma muestra, primero se identificaba el alelo NAT2\*5B como ya se mencionó anteriormente (figuras 19, 20, 21, 22 y 23). Para comprobar que los polimorfismo C282T y G857A se encontraban juntos formando el alelo NAT2\*7B se hicieron dos dobles digestiones. La primera doble digestión fue con las enzimas *Fok* I y *Kpn* I para identificar los polimorfismos C282T y C481T, respectivamente. Esta digestión fue igual a la del alelo NAT2\*6A para identificar el polimorfismo C282T (figuras 25, 26 y 27). La segunda

digestión se realizó con las enzimas *Dde* I y *Hinf* I para identificar los polimorfismos A803G y G857A, respectivamente.

En la figura 31 se muestra el fragmento de 866 pb con la secuencia del alelo normal, que al digerirse con las enzimas *Dde* I y *Hinf* I genera seis fragmentos de 278 pb, 169 pb, 137 pb, 122 pb, 121 pb y 39 pb. Como se ve en el gel de la figura 33 y en el esquema de la figura 31 (parte inferior) la digestión de las enzimas del fragmento de 866 pb con el polimorfismo A803G genera siete fragmentos de 278 pb, 169 pb, 137 pb, 122 pb, 98 pb, 39 pb y 23 pb, los fragmentos de 98 pb y 23 pb se forman al crearse un sitio de corte en el fragmento de 121 pb para la enzima *Dde* I al estar presente el polimorfismo A803G.

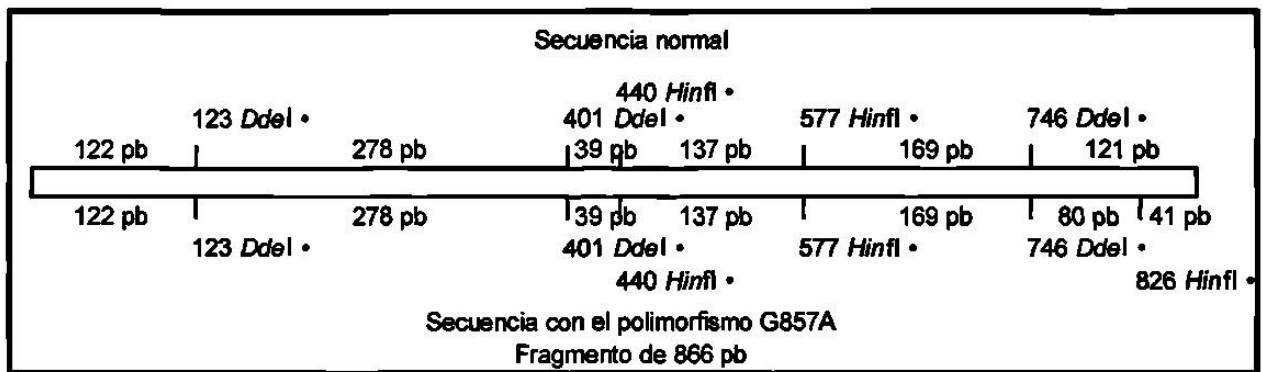


**Figura 31.** Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Dde* I (A803G) y *Hinf* I (G857A), para identificar el polimorfismo A803G. En ambas secuencias se observa que al no encontrarse el polimorfismo G857A la enzima *Hinf* I no corta este fragmento en la posición de 826 pb, y además, en ambas secuencias existen tres sitios de corte para la enzima *Dde* I en las posiciones 123 pb, 401 pb y 746 pb y dos sitios de corte para la enzima *Hinf* I en las posiciones 440 pb y 577 pb. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no tener el polimorfismo A803G la enzima *Dde* I no corta el fragmento de 866 pb en la posición de 769 pb. En la secuencia con el polimorfismo A803G (parte inferior), se observa que al tener el polimorfismo la enzima *Dde* I corta el fragmento de 866 pb en la posición de 769 pb.

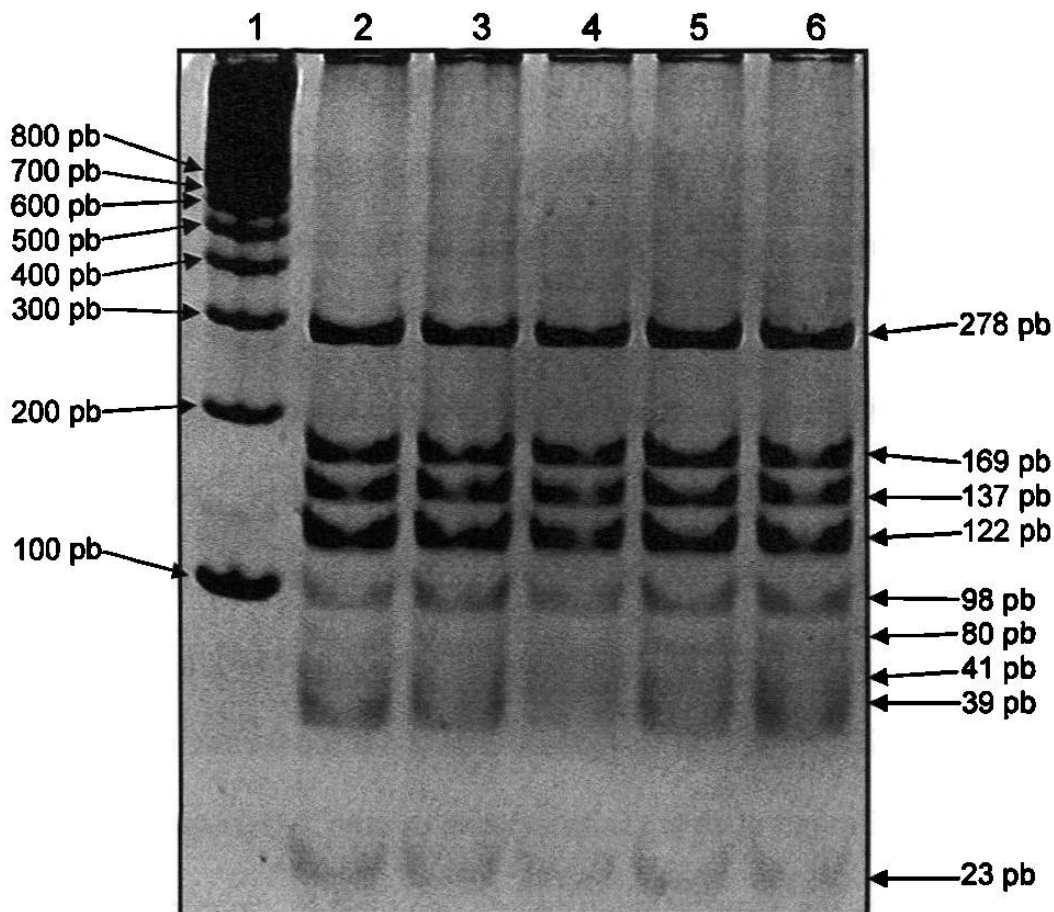
La digestión del fragmento de 866 pb con el polimorfismo G857A genera siete bandas de 278 pb, 169 pb, 137 pb, 122 pb, 80 pb, 41 pb y 39 pb (figura 32).

Los fragmentos de 80 pb y 41 pb se generan del fragmento de 121 pb debido a que al estar presente el polimorfismo G857A crea un sitio de corte para la enzima *Hinf* I.





**Figura 32.** Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Dde* I (A803G) y *Hinf* I (G857A), para identificar el polimorfismo G857A. En ambas secuencias se observa que al no tener el polimorfismo A803G la enzima *Dde* I no corta el fragmento de 866 pb en la posición de 769 pb, y además, en ambas secuencias existen tres sitios de corte para la enzima *Dde* I en las posiciones 123 pb, 401 pb y 746 pb y dos sitios de corte para la enzima *Hinf* I en las posiciones 440 pb y 577 pb. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no encontrarse el polimorfismo G857A la enzima *Hinf* I no corta este fragmento en la posición de 826 pb. En la secuencia con el polimorfismo A803G (parte inferior), se observa que al encontrarse el polimorfismo G857A la enzima *Hinf* I corta este fragmento en la posición de 826 pb.



**Figura 33.** Digestión con las enzimas *Dde* I (A803G) y *Hinf* I (G857A). Gel de poliacrilamida al 12% donde se muestra en el carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb; de los carriles 2-6: Sujetos con los polimorfismos en diferentes alelos donde el alelo con el polimorfismo A803G presentan siete fragmentos de 278 pb, 169 pb, 137 pb, 122 pb, 98 pb, 39 pb y 23 pb y el alelo con el polimorfismo G857A también presenta siete fragmentos de 278 pb, 169 pb, 137 pb, 122 pb, 80 pb, 41 pb y 39 pb.

Como se ve en los geles de las figuras 27 y 33, los dos polimorfismos C282T y G857A no estaba en el alelo NAT2\*5B donde se encuentran los polimorfismo C481T y A803G. Esto quiere decir que se encuentran formando el alelo NAT2\*7B.

A una persona que era heterocigota para los alelos NAT2\*12A y NAT2\*5B, solamente se les identificaban los polimorfismos T341C y C481T alelo NAT2\*5B como se muestra en el gel de la figura 21 y los esquemas de las figuras 19 y 20, debido a que el polimorfismo A803G que forma el alelo NAT2\*12A se encuentra en ambos alelos.

Cuando una persona era heterocigota para los alelos NAT2\*12B y NAT2\*5B, primero se identificaban los polimorfismos T341C y C481T alelo NAT2\*5B como se muestra en el gel de la figura 21 y los esquemas de las figuras 19 y 20. El alelo NAT2\*12B se identificó haciendo una doble digestión para identificar el polimorfismo C282T de la misma manera como se realizó para identificarlo en NAT2\*6A (figuras 26, 27, 28 y 29). El polimorfismo A803G se encuentra en ambos alelos y por lo tanto no fue necesario determinarlo.

También se encontró la combinación de polimorfismos C282T y C481T a quien Myron Gross y cols.<sup>49</sup> le designaron el nombre de alelo NAT2\*13B. Para determinar si estos polimorfismos estaban juntos formando este alelo, se hizo una doble digestión con las enzimas *Kpn* I y *Fok* I para los polimorfismos C481T y C282T, respectivamente. La digestión del alelo normal nos dio cuatro fragmentos de 238 pb, 222 pb, 207 pb y 199 pb (figura 34, parte superior). Como se observa en el gel de la figura 35 y el esquema de la figura 34 (parte inferior), el alelo con ambos polimorfismos nos dio dos fragmentos de 667 pb y 199 pb. El fragmento de 667 pb se genera cuando los fragmentos de 238 pb, 222 pb y 207 pb se unen debido a que las enzimas *Kpn* I y *Fok* I pierden su sitio de corte al estar presentes los polimorfismos C481T y C282T, respectivamente.

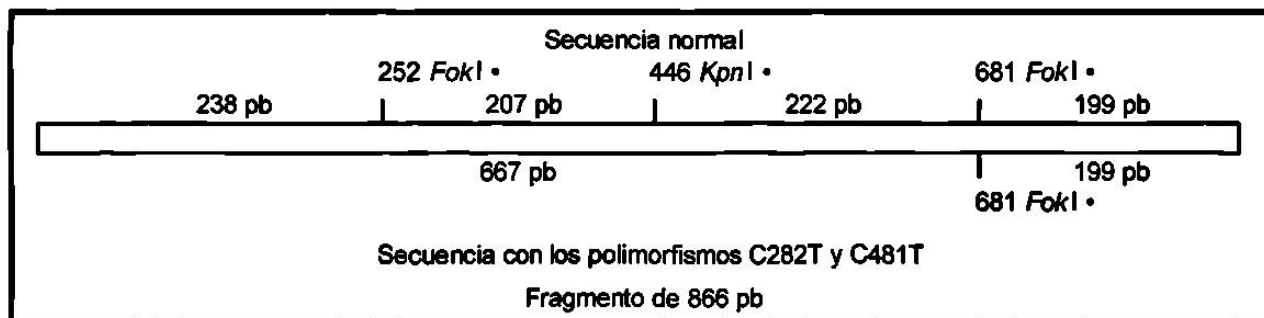


Figura 34. Fragmento de 866 pb digerido con las enzimas *Fok I* (C282T) y *Kpn I* (C481T), para identificar los polimorfismos C282T y C481T. En la secuencia normal (parte superior), se observa que al no tener el polimorfismo C282T la enzima *Fok I* corta el fragmento de 866 pb en la posición de 252 pb y al no encontrarse el polimorfismo C481T la enzima *Kpn I* corta este fragmento. En la secuencia con los polimorfismos C282T y C481T (parte inferior), se observa que al tener el polimorfismo C282T la enzima *Fok I* no corta el fragmento de 866 pb en la posición de 252 pb, y al encontrarse el polimorfismo C481T la enzima *Kpn I* no corta este fragmento. En ambas secuencias existe un sitio de corte para la enzima *Fok I* en la posición de 681 pb.

Como se observa en el gel figura 35, estos polimorfismos se encuentran en el mismo alelo, por lo tanto esta persona es heterocigota para el alelo NAT2\*13B y NAT2\*4.

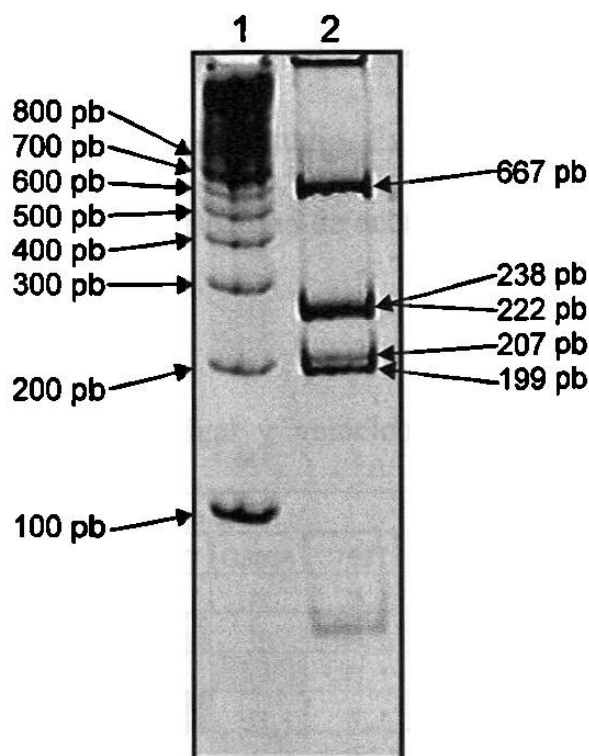


Figura 35. Digestión con las enzimas *Fok I* (C282T) y *Kpn I* (C481T). Gel de poliacrilamida al 12% donde se muestra en el carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb; en el carril 2: Sujeto heterocigoto para los alelos NAT2\*13B y NAT2\*4 donde se muestran los fragmentos del alelo NAT2\*13B de 667 pb y 199 pb y los fragmentos del alelo NAT2\*4 de 238 pb, 222 pb, 207 pb y 199 pb.

Adicionalmente se encontró la combinación de polimorfismos G590A, C759T y A803G que no había sido reportada. Se comprobó que los polimorfismos G590A y C759T se presentaban en el mismo alelo (Figura 15), porque ambos polimorfismos eliminan sus respectivos sitios de corte para la enzima *Taq* I y por lo tanto los fragmentos 226 pb, 170 pb y 139 bp se unen formando un fragmento de 535 pb. El polimorfismo A803G se encontraba en ambos alelos, por lo cual no fue necesario determinar en cual alelo se encontraba. De lo anterior se comprueba que los polimorfismos G590A, C759T y A803G se encontraban en el mismo alelo y que el individuo era heterocigoto para esta combinación de polimorfismo y para el alelo NAT4\*12A.

#### 4.6 Frecuencia de los alelos variantes de NAT2 en la población estudiada.

Después de designarles los alelos correspondientes a cada individuo, se obtuvo la frecuencia alélica en la población de estudio. En la tabla XXIV se muestran todos los polimorfismos encontrados y su velocidad de acetilación que se les asignó de acuerdo a la nomenclatura existente.

**Tabla XXIV.** Frecuencia alélica individual y velocidad de acetilación en la población de estudio

N°	Polimorfismos											Alelo 1	Alelo 2	Tipo de Acetilador
	T111C	G191A	C282T	T341C	A434C	C481T	G590A	C759T	A803G	A845C	G857A			
1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
2	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
3	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
4	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
5	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
6	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
7	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
9	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
10	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento

N°	Polimorfismos											Alelo	Alelo	Tipo de
	T111C	G191A	C282T	T341C	A434C	C481T	G590A	C759T	A803G	A845C	G857A	1	2	Acetilador
11	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
12	N	N	H	H	N	H	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*12B	Intermedio
13	N	N	N	M	N	M	N	N	H	N	N	NAT2*5A	NAT2*5B	Lento
14	N	N	N	H	N	H	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*5A	Intermedio
15	N	N	H	N	N	N	N	N	H	N	H	NAT2*7B	NAT2*12A	Intermedio
16	N	N	H	H	N	H	H	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*6C	Lento
17	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
18	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
19	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
20	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7A	Intermedio
21	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
22	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
23	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
24	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
25	N	N	N	H	N	N	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5C	Intermedio
26	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
27	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
28	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
29	N	N	M	N	N	N	M	N	N	N	N	NAT2*6A	NAT2*6A	Lento
30	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
31	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
32	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
33	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
34	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
35	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
36	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
37	N	N	H	H	N	N	N	N	H	N	N	NAT2*5C	NAT2*13	Intermedio
38	N	N	H	N	N	H	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*13B	Rápido
39	N	N	M	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*7B	NAT2*13	Intermedio
40	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
41	N	N	M	N	N	N	H	N	N	N	H	NAT2*6A	NAT2*7B	Lento
42	N	N	H	H	N	N	N	N	H	N	H	NAT2*5C	NAT2*7B	Lento
43	N	N	N	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6B	Lento
44	N	N	N	N	N	N	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*12A	Rápido
45	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
46	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
47	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
48	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
49	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
50	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
51	N	N	M	N	N	N	M	N	N	N	N	NAT2*6A	NAT2*6A	Lento
52	N	N	N	N	N	N	H	H	M	N	N		NAT2*12A	Intermedio
53	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
54	N	N	M	N	N	N	N	N	N	N	M	NAT2*7B	NAT2*7B	Lento
55	N	N	N	H	N	H	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*12A	Intermedio
56	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
57	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento

N°	Polimorfismos											Alelo	Alelo	Tipo de
	T111C	G191A	C282T	T341C	A434C	C481T	G590A	C759T	A803G	A845C	G857A	1	2	Acetilador
58	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
59	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
60	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
61	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
62	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
63	N	N	M	N	N	N	H	N	N	N	H	NAT2*6A	NAT2*7B	Lento
64	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
65	N	N	N	H	N	N	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5C	Intermedio
66	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
67	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
68	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*13	Rápido
69	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
70	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
71	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
72	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
73	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
74	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
75	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
76	N	N	H	H	N	N	N	N	H	N	H	NAT2*5C	NAT2*7B	Lento
77	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
78	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
79	N	N	M	N	N	N	M	N	N	N	N	NAT2*6A	NAT2*6A	Lento
80	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
81	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
82	N	N	N	N	N	N	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*12A	Rápido
83	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
84	N	N	H	H	N	H	N	N	H	N	H	NAT2*5B	NAT2*7B	Lento
85	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
86	N	N	M	N	N	N	M	N	N	N	N	NAT2*6A	NAT2*6A	Lento
87	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
88	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
89	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
90	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
91	N	N	H	N	N	N	H	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*6A	Intermedio
92	N	N	H	N	N	N	N	N	N	N	H	NAT2*4	NAT2*7B	Intermedio
93	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
94	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido
95	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
96	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
97	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
98	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
99	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
100	N	N	N	M	N	M	N	N	M	N	N	NAT2*5B	NAT2*5B	Lento
101	N	N	H	H	N	H	H	N	H	N	N	NAT2*5B	NAT2*6A	Lento
102	N	N	N	H	N	H	N	N	H	N	N	NAT2*4	NAT2*5B	Intermedio
103	N	N	N	N	N	N	N	N	M	N	N	NAT2*12A	NAT2*12A	Rápido
104	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	NAT2*4	NAT2*4	Rápido

En la tabla XXV se muestran los 14 alelos encontrados en la población de estudio y su frecuencia.

**Tabla XXV.** Frecuencia alélica en la población de estudio

Alelos	No	%	Alelos	No	%
NAT2*4	65	31.25	NAT2*7A	1	0.48
NAT2*5A	2	0.96	NAT2*7B	24	11.54
NAT2*5B	67	32.21	NAT2*12A	7	3.37
NAT2*5C	5	2.40	NAT2*12B	1	0.48
NAT2*6A	29	13.94	NAT2*13	3	1.44
NAT2*6B	1	0.48	NAT2*13B <sup>a</sup>	1	0.48
NAT2*6C	1	0.48	G590A/C759T/A803G	1	0.48

<sup>a</sup>Myron Gross *cols.*, Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 1999 8:683-692<sup>49</sup>

#### 4.7 Patrón de acetilación

El patrón de acetilación se determinó de acuerdo a dos modelos: En la tabla XXVI se muestran los resultados del modelo bimodal donde el 14% de la población de estudio son acetiladores rápidos y un 86% son acetiladores lentos. Con el modelo trimodal (tabla XXVII) los acetiladores rápidos quedan igual, pero los acetiladores lentos disminuyen a un 40% y surgen los acetiladores intermedios con un 46%.

**Tabla XXVI.** Modelo bimodal

Acetilador	%
Lento	85.6
Rápido	14.4

**Tabla XXVII.** Modelo trimodal

Acetilador	%
Lento	40.4
Intermedio	45.2
Rápido	14.4

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN

En este trabajo se investigo el genotipo NAT2 en 104 voluntarios sanos de la población del noreste de México. Siendo uno de los primeros trabajos realizados en el noreste de México.

Inicialmente se detectaron los polimorfismos presentes en cada individuo por RFLPs. De los 11 polimorfismos estudiados solo se encontraron 8 en la población de estudio. En la tabla XXIII se puede observar que los polimorfismos mas frecuentes fueron A803G, T341C, C481T y C282T, teniendo una presencia del 50% o más en la población estudiada. Los polimorfismos G590A y G857A tuvieron una frecuencia del 28 y 24%, respectivamente. El polimorfismo C759T solamente se presentó una vez (1%) y fue en forma de heterocigoto. Con respecto a los polimorfismos T111C, G191A, A434C y A845C no se encontraron en la población de estudio.

Después de haber determinado los polimorfismos en cada individuo se realizo un análisis de ligamiento por RFLPs para asignar los alelos. La tabla XXV muestra la frecuencia de los 14 alelos encontrados en la población de estudio. Los alelos mas frecuentes fueron el alelo NAT2\*5B, que es un alelo de acetilación lenta y el alelo NAT2\*4, que es el alelo silvestre, al cual se le considera que es un alelo acetilador rápido. Otros alelos con una frecuencia moderada fueron los alelos NAT2\*6A y NAT2\*7B, ambos siendo alelos acetiladores lentos. Los alelos acetiladores lentos que se presentaron en menor frecuencia son NAT2\*5C, NAT2\*5A, NAT2\*6B, NAT2\*6C y NAT2\*7A. Además de alelo NAT2\*4, se presentaron en esta población otros alelos



acetiladores rápidos que fueron NAT2\*12A, NAT2\*13 y NAT2\*12B, que tuvieron una frecuencia de moderada a baja.

Al comparar la frecuencia alélica encontrada en este estudio con las frecuencias alélicas publicadas sobre hispanos y otros grupos étnicos (tabla II), se observan variaciones con respecto a nuestra población de estudio. Como se observa en la tabla II para la variaciones alélicas NAT2\*5A/B/C en los grupos indígenas se identificó una baja frecuencia de estos alelos (2% y 10%), y en grupo hispano se presenta una frecuencia relativamente alta (28%), mientras que en nuestro estudio se observa una frecuencia mayor (35.5%). En otro estudio realizado por Vargas y cols.<sup>98</sup> en una población colombiana, se encontró una frecuencia de 44.4%, la cual es similar a la reportada para los caucásicos (43% a 46%),<sup>99,100</sup> pero mayor a la observada en nuestra población. Para la variaciones alélicas NAT2\*6A/B/C se ha reportado una baja frecuencia para los indios americanos (0% y 3.5%)<sup>101,102</sup> y en una población colombiana (3.9%).<sup>98</sup> En cambio, la tabla II muestra que para el grupo de hispanos la frecuencia es de un 18%, la cual es similar a la que encontramos en este estudio de un 14.9%. Esta frecuencia es menor a la reportada para grupos caucásicos (26% a 31%) y Asiáticos (22% a 36%). En la tabla II ambos grupos indígenas presentan una mayor frecuencia de las variaciones alélicas NAT2\*7A/B (24% y 21%), mientras que en el grupo caucásico se presenta en 1 a 2 %, en el grupo asiático su frecuencia es de un 10% a 18% y en los aborígenes de Australia hasta un 40%. Sin embargo en los hispanos podemos ver que la frecuencia es de un 14%, similar a la encontrada por nosotros de un 12%, aunque en algunas poblaciones hispanas como la colombiana<sup>98</sup> se halló una frecuencia de 36.7%. Las variaciones alélicas NAT2\*14A/B que se muestran en la tabla II tienen una frecuencia similar (0% a 1%) a las encontradas en nuestro estudio (0%), a excepción de los grupos

Afroamericanos y Africanos, donde la frecuencia es mayor (8% y 9%); por lo cual, estos alelos se consideran exclusivos de la raza negra.

En un estudio<sup>98</sup> donde evaluaron 137 individuos para determinar la actividad fenotípica de la N-Acetiltransferasa en hispanos, mediante la medición de los metabolitos urinarios de la cafeína, se encontraron un 29.9% de acetiladores lentos, un 56.93% de acetiladores intermedios y un 13.13% de acetiladores rápidos. El resultado que se aproxima es el de los acetiladores rápidos con un 14.4%, los acetiladores lentos (40.4%) es mayor con un 10.1% y los acetiladores intermedios (45.2%) es menor con un 10.93%.

Se encontró un alelo que no está reportado en la nomenclatura de NAT2, pero que ya se encuentra reportado por Myron Gross y *cols.*<sup>50</sup>, proponiendo el nombre de NAT2\*13B. Al igual que en ese estudio la presencia de este alelo fue muy baja de 0.48%. Otro alelo que no se encuentra reportado se encontró en este estudio, el cual se compone de la siguiente combinación de polimorfismos: G590A, C759T y A803G. Este alelo podría ser un genotipo acetilador lento debido a que posee el polimorfismo G590A, el cual en estudios *in vitro* e *in vivo* se comporta como un fenotipo acetilador lento, sin embargo habrá que demostrarlo en un estudio farmacológico.

Por último cabe decir que existen diferencias entre los grupos étnicos y también entre los individuos de cada grupo étnico, por lo tanto el comportamiento frente a medicamentos, agentes carcinogénicos y otros metabolitos que sean acetilados por esta enzima, va a ser diferente entre grupos étnicos y entre diferentes individuos dentro estos grupos.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

El genotipo acetilador más común fue el intermedio con un 46%, seguido por el lento con un 40% y finalmente el genotipo acetilador rápido con un 14%.

Los alelos mas frecuentes en nuestra población de estudio fueron el alelo NAT2\*5B, el cual es un alelo con un genotipo acetilador lento y el alelo NAT2\*4, que es el alelo silvestre y que tiene un genotipo acetilador rápido.

Nuestros datos sobre el genotipo varían a los reportados para las poblaciones hispanas en los alelos NAT2\*4, el cual se encuentra en menor frecuencia y el alelo NAT2\*5 que su frecuencia es mayor a la reportada. Mientras que los alelos NAT2\*6 y NAT2\*7 sus frecuencias son ligeramente menores a las reportada.

Se encontró una combinación de polimorfismos que no está reportada (G590A, C759T y A803G).

**CAPITULO VII****BIBLIOGRAFÍA**

1. Miller, M.C., Mohrenweiser, H.W. y Bell, D.A. Genetic variability in susceptibility and response to toxicants. *Toxicology Letters*. 120: 269-280. (2001).
2. Wormhoudt, L.W., Commandeur, J.N. y Vermeulen, N.P. Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 29: 59-124. (1999).
3. Zacest, R. y Koch-Weser, J. Relation of hidralazine plasma concentration to dosage and hypotensive action. *Clin. Pharmacol. Ther.* 13: 420-425. (1972).
4. Forstrom, L., Mattila, M.J. y Mustakallio, K.K. Acetylator phenotype, minimal maintenance dose and haemolytic effect of dapsone in dermatitis herpetiformis. *Ann. Clin. Res.* 6: 308-310. (1974).
5. Jounela, A.J., Pasanen, M. y Mattila, M.J. Acetylator phenotype and the antihypertensive response to hydralazine. *Acta Med. Scand.* 197: 303-306. (1975).
6. Ramsay, L.E., Silas, J.H., Ollerenshaw, J.D., Tucker, G.T., Phillips, F.C. y Freestone, S. Should the acetylator phenotype be determined when prescribing hydralazine for hypertension?. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 26: 39-42. (1984).
7. Nebert, D.W. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist?. *Am. J. Hum. Genet.* 60(2): 265-71. (1997).
8. Evans W.E. y Relling M.V. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science*. 286: 487-491. (1999).
9. Gonzalez, F.J., Skodak, R.C., Kimura, S., Umeno, M., Zanger, U.M., Nebert, D.W., Gelboin, H.V., Hardwick, J.P. y Meyer, U.A. Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature*. 331: 442-445. (1988).
10. Mahgoub, A., Idle, J.R., Dring, L.G., Lancaster, R. y Smith, R.L. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet*. 2: 584-586. (1977).
11. Krynetski, E.Y. y Evans, W.E. Pharmacogenetics of Cancer Therapy: Getting Personal. *Am. J. Hum. Genet.* 63: 11-16. (1998).

12. Nakamura, H., Uetrecht, J., Cribb, A.E., Miller, M.A., Zahid, N., Hill, J., Josephy, P.D., Grant, D.M. y Spielberg, S.P. In vitro formation, disposition and toxicity of N-acetoxy-sulfamethoxazole, a potential mediator of sulfamethoxazole toxicity. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 274: 1099-1104. (1995).
13. Blum, M., Demierre, A., Grant, D.M., Heim, M. y Meyer, U.A. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 5237-5241. (1991).
14. Alu, W.W., Sierra-Torres, C.H., Cajas-Salazar, N. y Salama, A.S. Inheritance of polymorphic metabolizing genes on environmental disease and quality of life. *Mutation Research.* 428: 131-140. (1999).
15. Ichiba, M., Hagma, L., Rannug, A., Hogstedt, B. Alexandrie, A.K., Carstensen, U. y Hemminki K. Aromatic DNA adducts, micronuclei and genetic polymorphism for CYP1A1 and GSTT1 in chimney sweeps. *Carcinogenesis.* 15: 1347-1352. (1994).
16. Raunio, H., Husgafvel-Pursiainen, K., Anttila, S., Hietanen, E., Hirvonen, A. y Pelkonen, O. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility: a review. *Gene.* 159: 113-121. (1995).
17. Tampier L. Programa de farmacología molecular y clínica: Biotransformación de fármaco. <http://www.geocities.com/Paris/Jardin/3845/biotransformación.html>.
18. Kadlubar, F.F., Butler, M.A., Kaderlik, K.R., Chou, H-C. y Lang, N. P. Polymorphisms for aromatic amine metabolism in humans: relevance for human carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.*, 98: 69-74, 1992.
19. Ayesh, R. y Smith, R. L. Genetic polymorphism in human toxicology. In: P. Turner and G. N. Volans (eds.), *Recent Advances in Clinical Pharmacology and Toxicology.* pp. 137-157. Edinburgh: Churchill Livingstone. (1989).
20. Hein, D.W. Acetylator genotype and arylamine-induced carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 948: 37-66. (1988).
21. Hein, D.W., Doll, M.A., Rustan, T.D., Gray, K., Feng, Y., Ferguson, R.J. y Grant, D.M. Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by recombinant human NAT1 and polymorphic NAT2 acetyltransferases. *Carcinogenesis.* 14: 1633-1638. (1993).
22. Kato, R. Metabolic activation of mutagenic heterocyclic aromatic amines from protein pyrolysates. *Crit Rev Toxicol.* 16: 307-348. (1986).

23. Minchin, R.F., Reeves, P.T., Teitel, C.H., McManus, M.E., Mojarrabi, B., Ilett, K.F. *et al.* N- and O-acetylation of aromatic and heterocyclic amine carcinogens by human monomorphic and polymorphic acetyltransferases expressed in COS-1 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 185: 839–844. (1992).
24. Zenser, T.V., Lakshmi, V.M., Rustan, T.D., Doll, M.A., Deitz, A.C., Davis, B.B. *et al.* Human N-acetylation of benzidine: role of NAT1 and NAT2. *Cancer Res.* 56: 3941–3947. (1996).
25. Deguchi, T., Sequences and expression of alleles of polymorphic arylamine N-acetyltransferase of human liver. *J. Biol. Chem.* 267: 18140-18147. (1992).
26. Hickman, D., Risch, A., Camilleri, J.P. y Sim, E. Genotyping human polymorphic arylamine N-acetyltransferase: identification of new slow allotypic variants. *Pharmacogenetics.* 2: 217-226. (1992).
27. Bell, D.A., Taylor, J.A., Butler, M.A., Stephens, E.A., Wiest, J., Brubaker, L.H., Kadlubar, F.F. y Lucier, G.W. Genotype:phenotype discordance for human arylamine N-acetyltransferase (NAT2) reveals a new slow-acetylator allele common in African-Americans. *Carcinogenesis.* 14: 1689–1692. (1993a).
28. Ohsako, S. y Deguchi, T. Cloning and expression of cDNAs for polymorphic and monomorphic arylamine N-acetyltransferases from human liver. *J. Biol. Chem.* 265: 4630–4634. (1990).
29. Butcher, N.J., Boukouvala, S., Sim, E. y Minchin, R.F. Pharmacogenetics of the arylamine N-acetyltransferases. *The Pharmacogenomics Journal.* 2: 30–42. (2002).
30. Weber, W.W. y Vatsis, K.P. Individual variability in *p*-aminobenzoic acid N-acetylation by human N-acetyltransferase (NAT1) of peripheral blood. *Pharmacogenetics* 3, 209–212. (1993).
31. Le Marchand, L., Sivaraman, L., Franke, A.A., Custer, L.J., Wilkens, L.R., Lau, A.F. y Cooney, R.V. Predictors of N-acetyltransferase activity: should caffeine phenotyping and NAT2 genotyping be used interchangeably in epidemiological studies?. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 5: 449–455. (1996).
32. Sinha, R. y Caporaso, N. Heterocyclic amines, cytochrome P450 1A2 and N-acetyltransferase: issues involved in incorporating putative genetic susceptibility markers into epidemiological studies. *Ann. Epidemiol.* 7: 350–356. (1997).
33. Sinclair, J.C., Sandy, J., Delgoda, R., Sim, E. y Noble, M.E. Structure of arylamine N-acetyltransferase reveals a catalytic triad. *Nat. Struct. Biol.* 7: 560–564. (2000).

34. Andres, H.H., Klem, A.J., Schopfer, L.M., Harrison, J.K. y Weber, W.W. On the active site of liver acetyl-CoA. Arylamine N-acetyltransferase from rapid acetylator rabbits (III/J). *J. Biol. Chem.* 263: 7521–7527. (1988).
35. Dupret, J.M. y Grant, D.M. Site-directed mutagenesis of recombinant human arylamine N-acetyltransferase expressed in *Escherichia coli*. Evidence for direct involvement of Cys68 in the catalytic mechanism of polymorphic human NAT2. *J. Biol. Chem.* 267: 7381–7385. (1992).
36. Yamamura, E., Sayama, M., Kakikawa, M., Mori, M., Taketo, A. y Kodaira, K. Purification and biochemical properties of an N-hydroxyarylamine Oacetyltransferase from *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1475: 10–16. (2000).
37. Kattner, E., Dubbels, R. y Schloot, W. Acetylation of procainamide and isoniazid by a rat liver-N-acetyl-transferase. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 6: 81–84. (1981).
38. Riddle, B. y Jencks, W.P. Acetyl-coenzyme A: arylamine N-acetyltransferase. Role of the acetyl-enzyme intermediate and the effects of substituents on the rate. *J. Biol. Chem.* 246: 3250–3258. (1971).
39. Blum, M., Grant, D.M., McBride, W., Heim, M. y Meyer, U.A. Human arylamine N-acetyltransferase genes: isolation, chromosomal localization, and functional expression. *DNA & Cell Biol.* 9: 193–203. (1990).
40. Grant, D.M., Blum, M., Demierre, A. y Meyer, U.A. Nucleotide sequence of an intronless gene for a human arylamine N-acetyltransferase related to polymorphic drug acetylation. *Nucl. Acids. Res.* 17: 3978. (1989).
41. Matas, N., Thygesen, P., Stacey, M., Risch, A. y Sim, E. Mapping AAC1, AAC2 and AACP, the genes for arylamine N-acetyltransferases, carcinogen metabolising enzymes on human chromosome 8p22, a region frequently deleted in tumours. *Cytogenet Cell Genet.* 77: 290–295. (1997).
42. Bova, G.S., Carter, B.S., Bussemakers, M.J., Emi, M., Fujiwara, Y., Kyprianou, N. *et al.* Homozygous deletion and frequent allelic loss of chromosome 8p22 loci in human prostate cancer. *Cancer Res.* 53: 3869–3873. (1993).
43. Maitra, A., Tavassoli, F.A., Albores-Saavedra, J., Behrens, C., Wistuba, I.I., Bryant, D. *et al.* Molecular abnormalities associated with secretory carcinomas of the breast. *Hum. Pathol.* 30: 1435–1440. (1999).
44. Lutchman, M., Pack, S., Kim, A.C., Azim, A., Emmert-Buck, M., van Huffel, C. *et al.* Loss of heterozygosity on 8p in prostate cancer implicates a role for dematin in tumor progression. *Cancer Genet Cytogenet.* 115: 65–69. (1999).

45. Brown, M.R., Chuaqui, R., Vocke, C.D., Berchuck, A., Middleton, L.P., Emmert-Buck, M.R. *et al.* Allelic loss on chromosome arm 8p: analysis of sporadic epithelial ovarian tumors. *Gynecol. Oncol.* 74: 98–102. (1999).
46. Wistuba, I.I., Behrens, C., Virmani, A.K., Milchgrub, S., Syed, S., Lam, S. *et al.* Allelic losses at chromosome 8p21–23 are early and frequent events in the pathogenesis of lung cancer. *Cancer Res.* 59: 1973–1979. (1999).
47. Vincent-Viry, M., Pontes, Z. B., Gueguen, R., Galteau, M-M. y Siest, G. Segregation analyses of four urinary caffeine metabolic ratios implicated in the determination of human acetylation phenotypes. *Genet. Epidemiol.* 11: 115–129. (1994).
48. Butler, M. A., Lang, N. P., Young, J. F., Caporaso, N. E., Vineis, P., Hayes, R. B., Teitel, C. H., Massengill, J. P., Lawsen, M. F. y Kadlubar, F. F. Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites. *Pharmacogenetics.* 2: 116–127, 1992.
49. Hein, D.W., Grant, D.M. y Sim, E. Update on consensus arylamine N-acetyltransferase gene nomenclature. *Pharmacogenetics.* 10: 291–292. (2000).
50. Gross, M., Kruisselbrink, T., Anderson, K., Lang, N., McGovern, P., Delongchamp, R. y Kadlubar, F. Distribution and Concordance of N-Acetyltransferase Genotype and Phenotype in an American Population. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 8: 683–692. (1999).
51. Hein, D.W., Ferguson, R.J., Doll, M.A., Rustan, T.D. y Gray, K. Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase: enzymatic analysis of 15 recombinant wild-type, mutant, and chimeric NAT2 allozymes. *Hum. Mol. Genet.* 3: 729–734. (1994).
52. Grant, D.M., Blum, M., Beer, M. y Meyer, U.A. Monomorphic and polymorphic human arylamine N-acetyltransferases: a comparison of liver isozymes and expressed products of two cloned genes. *Mol. Pharmacol.* 39: 184–191. (1991).
53. Vatsis, K.P., Weber, W.W., Bell, D.A., Dupret, J.M., Evans, D.A., Grant, D.M. *et al.* Nomenclature for N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics.* 5: 1–17. (1995).
54. Grant, D.M., Hughes, N.C., Janezic, S.A., Goodfellow, G.H., Chen, H.J., Gaedigk, A. *et al.* Human acetyltransferase polymorphisms. *Mutat. Res.* 376: 61–70. (1997).
55. Hein, D.W., Doll, M.A., Fretland, A.J., Leff, M.A., Webb, S.J., Xiao, G.H. *et al.* Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol, Biomarkers & Prevention.* 9: 29–42. (2000).



56. Grant, D.M., Morike, K., Eichelbaum, M. y Meyer, U.A. Acetylation pharmacogenetics. The slow acetylator phenotype is caused by decreased or absent arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Clin. Invest.* 85: 968–972. (1990).
57. Hein, D.W., Doll, M.A., Rustan, T.D., Ferguson, R.J. Metabolic activation of N-hydroxyarylamines and N-hydroxyarylamides by 16 recombinant human NAT2 allozymes: effects of 7 specific NAT2 nucleic acid substitutions. *Cancer Res.* 55: 3531–3536. (1995).
58. Delomenie, C., Goodfellow, G.H., Krishnamoorthy, R., Grant, D.M. y Dupret J.M. Study of the role of the highly conserved residues Arg<sup>9</sup> and Arg<sup>64</sup> in the catalytic function of human N-acetyltransferases NAT1 and NAT2 by site-directed mutagenesis. *Biochem. J.* 323: 207–215. (1997).
59. Leff, M.A., Fretland, A.J., Doll, M.A. y Hein, D.W. Novel human N-acetyltransferase 2 alleles that differ in mechanism for slow acetylator phenotype. *J. Biol. Chem.* 274: 34519–34522. (1999).
60. Evans, D.A. N-acetyltransferase. *Pharmacol Therapeut.* 42: 157–234. (1989).
61. Lin, H.J. Smokers and breast cancer. ‘Chemical individuality’ and cancer predisposition. *J. Am. Med. Assoc.* 276:1511–1512. (1996).
62. Meyer, U.A. y Zanger, U.M. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 37: 269–296. (1997).
63. Bonicke, R. y Reif, W. Enzymatische inaktivierung von isonicotinsaurehydrazid im menschlichen und tierischen organismus. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 220: 321–333. (1953).
64. Spielberg, S.P. N-acetyltransferases: pharmacogenetics and clinical consequences of polymorphic drug metabolism. *J. Pharmacokinet Biopharmaceut.* 24: 509–519. (1996).
65. Das, K.M. y Dubin, R. Clinical pharmacokinetics of sulphasalazine. *Clin Pharmacokinet.* 1: 406–425. (1976).
66. Shear, N.H., Spielberg, S.P., Grant, D.M., Tang, B.K. y Kalow, W. Differences in metabolism of sulfonamides predisposing to idiosyncratic toxicity. *Ann. Intern. Med.* 105: 179–184. (1986).
67. Cribb, A.E., Nuss, C.E., Alberts, D.W., Lamphere, D.B., Grant, D.M., Grossman, S.J. *et al.* Covalent binding of sulfamethoxazole reactive metabolites to human and rat liver subcellular fractions assessed by immunochemical detection. *Chem. Res. Toxicol.* 9: 500–507. (1996).

68. May, D.G., Porter, J.A., Uetrecht, J.P., Wilkinson, G.R. y Branch, R.A. The contribution of N-hydroxylation and acetylation to dapsone pharmacokinetics in normal subjects. *Clin. Pharmacol Therapeut.* 48: 619–627. (1990).
69. Bluhm, R.E., Adedoyin, A., McCarver, D.G. y Branch, R.A. Development of dapsone toxicity in patients with inflammatory dermatoses: activity of acetylation and hydroxylation of dapsone as risk factors. *Clin. Pharmacol Therapeut.* 65: 598–605. (1999).
70. Ratain, M.J., Mick, R., Berezin, F., Janisch, L., Schilsky, R.L., Williams, S.F. *et al.* Paradoxical relationship between acetylator phenotype and amonafide toxicity. *Clin. Pharmacol Therapeut.* 50: 573–579. (1991).
71. Ratain, M.J., Mick, R., Berezin, F., Janisch, L., Schilsky, R.L., Vogelzang, N.J. *et al.* Phase I study of amonafide dosing based on acetylator phenotype. *Cancer Res.* 53: 2304–2308. (1993).
72. Ratain, M.J., Rosner, G., Allen, S.L., Costanza, M., Van Echo, D.A., Henderson, I.C. *et al.* Population pharmacodynamic study of amonafide: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 13: 741–747. (1995).
73. Ratain, M.J., Mick, R., Janisch, L., Berezin, F., Schilsky, R.L., Vogelzang, N.J. *et al.* Individualized dosing of amonafide based on a pharmacodynamic model incorporating acetylator phenotype and gender. *Pharmacogenetics.* 6: 93–101. (1996).
74. Payton, M., Auty, R., Delgoda, R., Everett, M. y Sim, E. Cloning and characterization of arylamine N-acetyltransferase genes from *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium tuberculosis*: increased expression results in isoniazid resistance. *J. Bacteriol.* 181: 1343–1347. (1999).
75. Delomenie, C., Fouix, S., Longuemaux, S., Brahim, N., Bizet, C., Picard, B. *et al.* Identification and functional characterisation of arylamine N-acetyltransferase in eubacteria: evidence for highly selective acetylation of 5-aminosalicylic acid. *J. Bacteriol.* 183: 3417–3427. (2001).
76. Okumura, F., Ueda, O., Kitamura, S. y Tatsumi, K.. N-acetylation and Nformylation of carcinogenic arylamines and related compounds in dogs. *Carcinogenesis.* 16: 71–76. (1995).
77. Trepanier, L.A., Ray, K., Winand, N.J., Spielberg, S.P. y Cribb, A.E. Cytosolic arylamine N-acetyltransferase (NAT) deficiency in the dog and other canids due to an absence of NAT genes. *Biochem. Pharmacol.* 54: 73–80. (1997).

78. Moller, L., Zeisig, M., Midtvedt, T. y Gustafsson, J.A. Intestinal microflora enhances formation of DNA adducts following administration of 2-NF and 2-AAF [published erratum appears in *Carcinogenesis*. 15(12): 2969 (1994)]. *Carcinogenesis*. 15: 857–861. (1994).
79. Besarati Nia, A., Van Straaten, H.W., Kleinjans, J.C. y Van Schooten, F.J. Immunoperoxidase detection of 4-aminobiphenyl- and polycyclic aromatic hydrocarbons-DNA adducts in induced sputum of smokers and nonsmokers. *Mutat. Res.* 468: 125–135. (2000).
80. Nagao, M., Wakabayashi, K., Ushijima, T., Toyota, M., Totsuka, Y. y Sugimura, T. Human exposure to carcinogenic heterocyclic amines and their mutational fingerprints in experimental animals. *Environ Health Perspect.* 104: 497–501. (1996).
81. Smith, C.J., Livingston, S.D. y Doolittle, D.J. An international literature survey of 'IARC Group I carcinogens' reported in mainstream cigarette smoke. *Food & Chem. Toxicol.* 35: 1107–1130. (1997).
82. Sram, R.J. y Binkova, B. Molecular epidemiology studies on occupational and environmental exposure to mutagens and carcinogens, 1997–1999. *Environ Health Perspect.* 108: 57–70. (2000).
83. Mao, Y., Hu, J., Ugnat, A.M. y White K. Non-Hodgkin's lymphoma and occupational exposure to chemicals in Canada. Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. *Ann. Oncol.* 11: 69–73. (2000).
84. Zhou, Q., Talaska, G., Jaeger, M., Bhatnagar, V.K., Hayes, R.B., Zenzer, T.V. *et al.* Benzidine-DNA adduct levels in human peripheral white blood cells significantly correlate with levels in exfoliated urothelial cells. *Mutat. Res.* 393: 199–205. (1997).
85. Lower, G.M., Jr, Nilsson, T., Nelson, C.E., Wolf, H., Gamsky, T.E. y Bryan, G.T. N-acetyltransferase phenotype and risk in urinary bladder cancer: approaches in molecular epidemiology. Preliminary results in Sweden and Denmark. *Environ Health Perspect.* 29: 71–79. (1979).
86. Wohlleb, J.C., Hunter, C.F., Blass, B., Kadlubar, F.F., Chu, D.Z. y Lang, N.P. Aromatic amine acetyltransferase as a marker for colorectal cancer: environmental and demographic associations. *Int. J. Cancer.* 46: 22–30. (1990).
87. Ilett, K.F., David, B.M., Detchon, P., Castleden, W.M. y Kwa, R. Acetylation phenotype in colorectal carcinoma. *Cancer Res.* 47: 1466–1469. (1987).
88. Lang, N.P., Chu, D.Z., Hunter, C.F., Kendall, D.C., Flammang, T.J. y Kadlubar, F.F. Role of aromatic amine acetyltransferase in human colorectal cancer. *Arch. Surg.* 121: 1259–1261. (1986).

89. Brockton, N., Little, J., Sharp, L. y Cotton, S.C. N-acetyltransferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review. *Am. J. Epidemiol.* 151: 846–861. (2000).
90. Chen, J., Stampfer, M.J., Hough, H.L., Garcia-Closas, M., Willett, W.C., Hennekens, C.H. *et al.* A prospective study of N-acetyltransferase genotype, red meat intake, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res.* 58: 3307–3311. (1998).
91. Welfare, M.R., Cooper, J., Bassendine, M.F. y Daly, A.K. Relationship between acetylator status, smoking, and diet and colorectal cancer risk in the north-east of England. *Carcinogenesis.* 18: 1351–1354. (1997).
92. Butcher, N.J., Ilett, K.F. y Minchin, R.F. Substrate-dependent regulation of human arylamine N-acetyltransferase-1 in cultured cells. *Mol. Pharmacol.* 57: 468–473. (2000).
93. Lang, N.P., Butler, M.A., Massengill, J., Lawson, M., Stotts, R.C., Hauer-Jensen, M. *et al.* Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. *Cancer Epidemiol, Biomarkers & Prevention.* 3: 675–682. (1994).
94. Longuemaux, S., Delomenie, C., Gallou, C., Mejean, A., Vincent-Viry, M.N., Bouvier, R., Droz, D., Krishnamoorthy, R., Galteau, M.M., Junien, C., Beroud, C., y Dupret, J. M. Candidate genetic modifiers of individual susceptibility to renal cell carcinoma: a study of polymorphic human xenobioticmetabolizing enzymes. *Cancer Res.* 59: 2903–2908. (1999).
95. Deitz, A.C., Zheng, W., Leff, M.A., Gross, M., Wen, W-Q., Doll, M.A., Xiao, G.H., Folsom, A.R. y Hein, D.W. N-Acetyltransferase-2 Genetic Polymorphism, Well-done Meat Intake, and Breast Cancer Risk among Postmenopausal Women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 9: 905–910. (2000).
96. Nyberg, F., Hou, S-M., Hemminki, K., Lambert, B., y Pershagen, G. Glutathione S-transferase M1 and N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms and exposure to tobacco smoke in nonsmoking and smoking lung cancer patients and population controls. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 7: 875–883. (1998).
97. Ausubel F.M, Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A, y Struhl, K. Short protocols in molecular biology. Four edition. (1999).

98. Vargas-Franco, J.W., Camargo, M. y Cuesta de F., F. Farmacogenética: caracterización del polimorfismo NAT-2 en una población colombiana. <http://www.colciencias.gov.co/seiaal/congreso/ponen5/VARGAS.htm>.
99. Lin, H.J., Chun-Ya, H., Lin, B.K. y Hardy, S. Ethnic distribution of slow acetylator mutations in the polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Pharmacogenetics*. 4: 125-134. (1995).
100. Lin, H.J. y Chun-Ya, H. Slow acetylator mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 Asians, Blacks, Hispanics and Whites: applications to metabolic epidemiology. *Am. J. Hum. Genet.* 52: 827-834. (1993).
101. Arias, T.D., Jorge, L.F., Griese, E-U. y Inaba, TEM. Polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) in Amerindian populations of Panama and Colombia: high frequencies of point mutations 857A, as found in allele S3/M3. *Pharmacogenetics*. 3: 328-331. (1993).
102. Arias, T.D., Jorge, L.F., Núñez, G. y Tadanobu, I. Estudio Preliminar sobre el fenotipo acetilador de los amerindios Teribes. *Rev. Med. Panamá*. 12: 30-36 (1987).



