



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Estudios Superiores
CUAUTITLAN



“Caracterización Fenotípica de Acetiladores Lentos y Rápidos en una Población Mexicana.”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
MARIA ALICIA FALCON NERI

Asesor: DR. FRANCISCO J. FLORES MURRIETA

Cosesor: M. en C. LUISA MARTINEZ AGUILAR

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1993



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Lista de figuras	8
Lista de tablas	10
Lista de abreviaturas	11
Glosario	12
Resumen	13
CAPITULO I Introducción General	15
Introducción	15
1. Metabolismo de fármacos	16
1.1 Funciones del metabolismo	16
1.2 Reacciones principales del metabolismo de fármacos	18
1.2.1 Reacciones metabólicas de la fase I	19
1.2.1.1 Reacciones de oxidación	19
a) Oxidación microsómica	19
b) Oxidación mitocondrial	19
c) Oxidación en otros organelos	20
d) Otras reacciones oxidativas	20
1.2.1.2 Reacciones de reducción	21
1.2.1.3 Reacciones de hidrólisis	21

1.2.2	Reacciones metabólicas de la fase II	21
1.2.2.1	Conjugación con glucurónidos	21
1.2.2.2	Reacción de acetilación	22
1.2.2.3	Conjugación con glutatión	22
1.2.2.4	Conjugación con glicina	23
1.2.2.5	Conjugación con sulfato	23
1.2.2.6	Metilación	23
2.	Farmacogenética	24
2.1	Bimodalidad de la reacción de acetilación	25
2.1.1	Base genética de la bimodalidad en la reacción de acetilación	26
2.1.2	Bimodalidad en el metabolismo de las sulfonamidas	27
2.1.3	Mecanismo de la acetilación	27
2.1.4	Modelos hereditarios	29
2.1.5	Variación étnica y geográfica	30
2.1.6	Consecuencias farmacológicas y toxicológicas del fenotipo acetilador'	32
	Ubicación y justificación de la tesis	34
1.	Ubicación del trabajo	34
2.	Justificación	34
	Objetivo	36
	CAPITULO II Material y Métodos	37

Material y Métodos	37
1. Sujetos de estudio	37
2. Protocolo experimental	38
3. Análisis de muestras	43
3.1 Sulfametazina libre (no metabolizada)	44
3.2 Sulfametazina total	44
3.3 Determinación de SMZ en orina	45
4. Cinética de acumulación de sulfametazina en orina	50
5. Análisis Estadístico y Farmacocinético	50
5.1 Fenotipo acetilador	50
5.2 Polimorfismo genético	51
5.3 Farmacocinética	51
CAPITULO III Resultados	53
Resultados	53
1. Caracterización del fenotipo acetilador	53
3. Cinética de sulfametazina	59
CAPITULO IV	63
Discusión	63
Conclusión	70
Referencias	71

LISTA DE FIGURAS

No.		Pág.
1	Estructura química de la sulfametazina y su correspondiente metabolito acetilado.	28
2	Sitio donde se realizó la toma de muestras de orina.	41
3	Mapa de los lugares de origen de los individuos bajo estudio.	42
4	Espectro de absorbancia característico del producto de la reacción para la determinación de sulfametazina.	43
5	Curva de calibración de sulfametazina.	48
6	Curva de exactitud para la determinación de SMZ.	49
7	Gráfica del logaritmo de la velocidad de excreción contra tiempo.	52
8	Histograma de frecuencia contra el porciento de acetilación.	55
9	Gráfica de frecuencia contra el porciento de acetilación acumulada.	57
10	Gráfica de el porcentaje de acetilación de cada uno de los sujetos que participaron en el estudio contra probit.	58
11	Cantidad acumulada de sulfametazina libre en función del tiempo, para un voluntario acetilador rápido.	59
12	Cantidad acumulada de sulfametazina total en función	

	del tiempo, para un voluntario acetilador rápido.	60
13	Logaritmo de la velocidad de excreción de sulfametazina libre y total en función del tiempo.	61

LISTA DE TABLAS

No.		Pág
I	Distribución del fenotipo acetilador de acuerdo al grupo étnico.	31
II	Posibles consecuencias terapéuticas del fenotipo acetilador.	33
III	Datos demográficos de los voluntarios que participaron en el estudio.	38
IV	Precisión del método de SMZ.	47
V	Exactitud del método de SMZ.	47
VI	Porcentaje de acetilación y clasificación del fenotipo acetilador.	53
VII	Porcentaje y número del fenotipo acetilador de los voluntarios que participaron en el estudio.	55
VIII	Parámetros farmacocinéticos de sulfametazina libre y total de un voluntario acetilador rápido.	62

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac-CoA	Acetil coenzima A
C.V.	Coficiente de Variación
cm	Centímetros
ET	Error tipo
h	Horas
k_e	Constante de eliminación
kg	Kilogramos
mg	Miligramos
NAT	N-acetiltransferasa
SMZ _L	Sulfametazina libre
SMZ _T	Sulfametazina total
SMZ	Sulfametazina
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media de eliminación

GLOSARIO

- Alelo.** Dos o más formas alternativas de un gen.
- Fenotipo.** Características manifiestas de un individuo, dependen del genotipo y del ambiente.
- Genotipo.** Constitución genética de una célula individual.
- Homocigotos.** Los genes correspondientes en el mismo locus de un cromosoma autosómico homólogos y pueden ser idénticos.
- Heterocigoto.** Alelos diferentes para un cierto gen.
- Polimorfismo.** Presencia en una misma población de dos o más formas fenotípicamente distintas de un rasgo.
- Autosómico.** Rasgo que se transmite por cualquiera de los otros 22 pares de cromosomas diferentes al X o al Y.
- Dominante.** Es el rasgo que se expresa en todas las generaciones, tanto en los homocigotos como en los heterocigotos.
- Recesivo.** El rasgo que se expresa solamente en los homocigotos.

RESUMEN

El metabolismo se define como la suma de todas las reacciones químicas para la biotransformación de sustancias endógenas y exógenas de los organismos vivos. El metabolismo tiene tres funciones principales: 1) proporcionar energía para el mantenimiento y funcionamiento del cuerpo; 2) simplificar estructuras y biosintetizar moléculas más complejas; 3) convertir o biotransformar compuestos extraños en sustancias más polares que son eliminadas fácilmente.

Se han señalado diferencias importantes en el metabolismo de fármacos entre los distintos individuos de una población. La causa principal de esta diversidad ha sido explicada en términos de la constitución genética de cada individuo. De esta manera, se han observado bimodalidades en el metabolismo de varios compuestos. Uno de los procesos metabólicos de mayor interés desde el punto de vista cuantitativo, es la reacción de acetilación. La distribución de frecuencias para esta reacción metabólica ha sido determinada con isoniazida y sulfonamidas en distintas poblaciones. Sin embargo los datos generados en mexicanos son escasos y contradictorios.

En este trabajo, se determinó la distribución de frecuencias del fenotipo acetilador en una población mexicana. Para ello, se administraron dosis orales de 500 mg de sulfametazina a un grupo de 70 voluntarios sanos. Se determinó sulfametazina total y sulfametazina libre mediante el método colorimétrico de Bratton-

Marshall, 1939. Se calculó el porcentaje de acetilación en muestras de orina. Los resultados del presente trabajo indican que un 75.7% de los individuos se comportaron como acetiladores rápidos y que un 24.3% como acetiladores lentos. Estos datos tienen similitud con los reportados para algunas poblaciones de América Latina.

CAPITULO I

INTRODUCCION GENERAL

CAPITULO I

INTRODUCCION

Los fármacos, al ser introducidos al organismo, sufren una serie de procesos como, absorción, distribución y eliminación los cuales son los principios de la farmacocinética. Debido a la enorme influencia que tienen los aspectos farmacocinéticos en la terapéutica, es muy importante que tales procesos sean tomados en consideración durante el diseño y desarrollo de cualquier forma farmacéutica.

En lo que concierne a la eliminación, ésta se lleva a cabo por dos procesos principales: la biotransformación y la excreción (Benet y Sheiner, 1985). Debido a que la mayoría de los fármacos sufren biotransformación hay que considerar el estudio de las reacciones químicas que se involucran en la misma, ya que la eficiencia, duración de acción y toxicidad de algunos fármacos dependen de su biotransformación. A su vez, la biotransformación puede verse afectada por factores como la dosis administrada, la posible interacción con otros fármacos y la integridad de las funciones hepática y renal (Meyer y cols., 1990). En este contexto, es conveniente resaltar la importancia que tiene el mecanismo de excreción renal en la cesación de la actividad biológica de algunos fármacos, en particular, de aquellos que tienen volúmenes moleculares pequeños y que a su vez poseen características químicas que les confieren un elevado porcentaje de ionización a pH

fisiológico (por ejemplo, la presencia de grupos funcionales altamente hidrolizables). No obstante, casi todos los fármacos carecen de estas propiedades (Ritschel, 1982).

1. METABOLISMO DE FARMACOS

El metabolismo se define como el conjunto de reacciones químicas para la biotransformación de sustancias endógenas y exógenas (Ritschel, 1982). El sitio principal del metabolismo de los fármacos es el hígado. Sin embargo, hay otros tejidos que tienen una actividad considerable como metabolizadores tales como el tracto gastrointestinal, los pulmones, la piel y los riñones (Correira y Castagnoli, 1984).

Los fármacos absorbidos en el tubo digestivo que pasan al torrente sanguíneo son transportados primero, por la circulación porta, al hígado y después pueden ser captados y metabolizados por los hepatocitos o células de Kupffer. La extracción o eliminación de un fármaco del torrente sanguíneo durante su paso inicial por el hígado se denomina efecto de primer paso (Benet y Sheiner, 1985).

1.1 *Funciones del metabolismo*

Aunque el metabolismo como tal constituye una serie de procesos complejos, sus funciones han sido perfectamente identificadas y definidas de la siguiente manera:

- 1) Proporcionar energía para el mantenimiento y funcionamiento del cuerpo.
- 2) Biosintetizar moléculas complejas a partir de sustancias más sencillas (anabolismo).
- 3) Simplificar estructuras químicas a través de su descomposición (catabolismo).
- 4) Convertir o biotransformar compuestos extraños en sustancias más polares que puedan ser eliminadas fácilmente (Ritschel, 1982).

Desde el punto de vista del metabolismo de los fármacos, la tercera función de las enumeradas previamente (catabolismo), tiene una importancia relevante debido a la gran influencia que tiene en la duración del efecto farmacológico producido por un determinado medicamento, así como en la producción de metabolitos los cuales, por lo general, tienen una actividad menor que el fármaco original e incluso pueden ser inactivos (detoxificación). Sin embargo, en algunas ocasiones puede formarse un metabolito farmacológicamente más activo a partir de un precursor inactivo o prefármaco. Asimismo, los metabolitos de un fármaco pueden tener una acción farmacológica diferente a la del compuesto original.

Es conveniente señalar que el término activo no solo se refiere a la producción de efectos terapéuticos, sino también a los efectos tóxicos como mutagenicidad, teratogenicidad y carcinogenicidad (Correira y Castagnoli, 1984; Benet y Sheiner, 1985).

En lo que respecta a la función número cuatro del metabolismo, una característica importante de casi todas las biotransformaciones es que los productos metabólicos son más polares que los fármacos originales (Correira y Castagnoli, 1984; Ritschel, 1982). En este contexto, las moléculas orgánicas que tienen actividad farmacológica, por lo general son entidades lipofílicas y en consecuencia permanecen no ionizadas o sólo ionizadas en forma parcial a pH fisiológico. En muchas ocasiones además, se encuentran fuertemente unidas a las proteínas plasmáticas (Goldstein y col., 1974). Tales sustancias no se filtran con facilidad en el glomérulo y adicionalmente, la naturaleza lipofílica de las membranas tubulares renales también facilita la reabsorción de los compuestos hidrofóbicos después de su filtración glomerular. En consecuencia, casi todos los fármacos tendrían una duración de acción prolongada si la cesación de su acción dependiera sólo de su excreción renal.

1.2 Reacciones principales del metabolismo de los fármacos

El metabolismo de los fármacos puede ocurrir mediante reacciones químicas espontáneas y no catalizadas o bien, como sucede con los fármacos, reacciones que son catalizadas por enzimas celulares específicas (Correira y Castagnoli, 1984). A nivel celular, estas enzimas pueden localizarse en el retículo endoplásmico, en las mitocondrias, o incluso en la envoltura nuclear de la membrana plasmática (Benet y Sheiner, 1985).

Las reacciones que ocurren en el metabolismo de los fármacos se han dividido en dos grupos:

a). *Reacciones de Fase I*: Son las que causan un cambio en la molécula del fármaco. Dentro de estas reacciones tenemos la oxidación microsómica, la oxidación mitocondrial, la oxidación en otros organelos, la reducción y las reacciones hidrolíticas.

b). *Reacciones de Fase II*: Son aquellas en las cuales se forma un conjugado de fármaco, o de su metabolito producido en la reacción de la fase I (Benet y Sheiner, 1985; Correira y Castagnoli, 1984; Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982). Dentro de estas reacciones tenemos la glucuronidación, la acetilación, la conjugación con glutatión, la conjugación con sulfato y la metilación.

1.2.1 *Reacciones metabólicas de la fase I*

1.2.1.1 *Reacciones de Oxidación*

a). *Oxidación microsómica*

Pueden dividirse en dos tipos: aquellas en que se añade un átomo de oxígeno al sustrato, y las reacciones en que la oxidación primaria causa una reestructuración molecular, con pérdida de una porción de la molécula original (Correira y Castagnoli, 1984).

b). *Oxidación mitocondrial*

Dentro de las reacciones de oxidación a nivel mitocondrial se encuentran aquellas que son catalizadas por las enzimas monoamino oxidasa y la diamino oxidasa. Estas dos enzimas son similares y su función es desaminar oxidativamente varias aminas naturales así

como una serie de fármacos. Los productos de reacción son alquil o aril aldehídos que se oxidan por otras enzimas hasta ácidos carboxílicos. La monoamino oxidasa es una enzima que se encuentra especialmente en el hígado, el riñón, el intestino y el tejido nervioso. Sus sustratos incluyen la feniletilamina, la tiramina, las catecolaminas y los derivados del triptófano. La diamino oxidasa convierte las aminas a aldehídos en presencia de oxígeno. Entre los sustratos se encuentra la histamina y las polimetilendiaminas (Benet y Sheiner, 1985).

c). Oxidación en otros organelos

Tienen gran importancia en la formación de profármacos de metabolitos activos que sirven como falsos neurotransmisores en nervios adrenérgicos. Se localiza en las vesículas adrenérgicas de almacenamiento (Goldstein y col., 1974).

d). Otras reacciones oxidativas

Algunas oxidaciones de metales que tienen importancia en la farmacología, incluyen la conversión del arsénico de la forma trivalente a la pentavalente y el hierro de la forma ferrosa a la férrica. Los sulfuros son oxidados a sulfatos y los compuestos del sulfhidrilo a ésteres del ácido sulfúrico o ácidos sulfónicos; los productos oxidados son menos tóxicos y se excretan rápidamente (Correira y Castagnoli, 1984).

1.2.1.2 Reacciones de reducción

Las reducciones metabólicas de los fármacos son más comunes que las oxidaciones. Por ejemplo las reducciones de tipo azo y nitro se verifican en presencia de numerosas enzimas que producen flavinas reducibles. Los metabolitos activos o inactivos son reabsorbidos y metabolizados. Sustratos de las reducciones son: el prontosil, la tartrazina, el nitrobenzeno, el cloranfenicol, la metirapona, la metadona y la naloxona (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

1.2.1.3 Reacciones de hidrólisis

Las numerosas enzimas hidrolíticas conocidas como esterasas y amidasas se encuentran en el plasma sanguíneo, hígado, riñón y otros tejidos. La reacción de hidrólisis de amidas tiene lugar con algunos fármacos como, la procainamida, la lidocaína y la indometacina. Algunos ejemplos de los sustratos farmacológicos de las esterasas son la procaína, la succinilcolina, la aspirina, el clofibrato y el metilfenidato (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

1.2.2 Reacciones metabólicas de la fase II

1.2.2.1 Conjugación con glucurónidos

El ácido glucurónico se combina con los fenoles, alcoholes, aminas aromáticas y ácidos carboxílicos para formar los glucurónidos correspondientes. Las enzimas que median este proceso se llaman UDP-glucuronil transferasas. Estas se encuentran en los microsomas

del hígado y otros tejidos (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

1.2.2.2 Reacción de acetilación

Es la conjugación de acetyl-coenzima-A (Ac-CoA) como donador de un grupo acetilo. La CoA por medio de su grupo sulfhidrilo libre reacciona con la forma activa de un ácido carboxílico para formar el derivado acetyl-CoA. El grupo acetilo se transfiere después a un aceptor adecuado, como una amina aromática. Las enzimas responsables son N-acetyltransferasas hepáticas y de la mucosa gastrointestinal (citosol). En el hígado se encuentran células reticuloendoteliales que acetilan a hidrazinas, arilaminas, sulfonamidas (Ritschel, 1982).

1.2.2.3 Conjugación con glutatión

Algunos hidrocarburos aromáticos, hidrocarburos aromáticos halogenados y nitrobenzenos halogenados se excretan en la orina como conjugados con un residuo de cisteína acetilado. Un sustrato activo reacciona primeramente con una cisteína unida a glutatión. La conjugación se cataliza por una serie de enzimas glutatión-S-transferasas. El conjugado de glutatión resultante se hidroliza para formar un intermediario y finalmente formar el ácido mercaptúrico que es fácilmente excretado en la orina (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

1.2.2.4 Conjugación con glicina

Es la formación de conjugados de la glicina con ácidos carboxílicos aromáticos; estas reacciones son catalizadas por la Ac-CoA-glicina transferasa y tienen lugar en las mitocondrias (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

1.2.2.5 Conjugación con sulfato

En esta conjugación se realiza una transferencia de grupos sulfato del fosfoadenosil fosfosulfato por la enzima sulfotransferasa. Hay una gran variedad de sulfotransferasas específicas para diversas moléculas aceptoras como los fenoles simples, los esteroides fenólicos, los esteroides alcohólicos, el cloranfenicol y las aminas aromáticas (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

1.2.2.6 Metilación

Las metilaciones se llevan a cabo por una vía en la que la S-adenosilmetionina sirve como donador del grupo metilo para formar los derivados N-metil, O-metil (metoxi) y S-metil. Las reacciones son catalizadas por diversas transmetilasas, tienen lugar en el citosol y sus sustratos incluyen a las catecolaminas, al fenol, a las aminas y a la histamina. La metilación ocurre por lo general en la posición meta (Goldstein y col., 1974; Ritschel, 1982).

Algunos fármacos son metabolizados casi completamente por una vía; no obstante, muchos otros son sometidos a varias vías metabólicas. En estos casos, el porcentaje o la cantidad metabolizado por las

diferentes vías puede variar según los individuos y más todavía según las especies (Weber, 1986).

2. FARMACOGENETICA

La farmacogenética estudia las variaciones de origen genético que se relacionan con los efectos de ciertos fármacos en el organismo (Bowman y Rand, 1985). Las diferencias intraindividuales en los procesos de distribución, de biotransformación y de eliminación de fármacos, están determinadas por factores genéticos y por variables independientes de la genética como son la edad, el sexo y el peso. Así mismo, las condiciones ambientales también parecen desempeñar un papel importante (Meyer y cols., 1990).

El punto de partida de la farmacogenética está constituido por una serie de observaciones acerca de la variación y discontinuidad en el efecto producido por algunos compuestos. En este sentido, se sabe que existen variaciones en la respuesta a los fármacos, ya sea entre personas que no tienen ninguna relación de parentesco o incluso entre las que son miembros de una familia.

En lo que concierne a la velocidad de biotransformación de algunos compuestos, ésta presenta una distribución normal o una distribución bimodal al analizarse en diferentes individuos y poblaciones. La distribución normal se presenta en una población cuyas características son relativamente homogéneas. La distribución

bimodal o polimorfismo genético se presenta en una población cuya característica es la de tener más de una alternativa genética en términos del metabolismo de algunos fármacos. Desde este punto de vista, la población puede estar constituida por subgrupos (Kalow, 1991).

2.1 Bimodalidad de la reacción de acetilación

La acetilación es un tipo de reacción metabólica en la que se ha observado bimodalidad. Esta reacción es, catalizada por la enzima N-acetiltransferasa (NAT) hepática, distingue dos fenotipos metabolizadores: uno lento y otro rápido.

Existen algunos fármacos y compuestos que son acetilados polimórficamente como la isoniazida, la hidralazina, la sulfametazina, la sulfamerazina, la sulfadiazina, la sulfapiridina, la procainamida, el dapsona, la benzidina, la cafeína y otros. En contraste, otros compuestos son acetilados monomórficamente y presentan distribución normal; entre ellos tenemos al ácido p-aminosalicílico, al ácido p-aminobenzóico y al sulfametoxazol, entre otros (Weber, 1986).

Los primeros estudios que dieron lugar al descubrimiento de un patrón heterogéneo en el metabolismo de los fármacos, involucran al compuesto antituberculoso isoniazida o hidrazida del ácido isonicotínico. En estos estudios, se observó que algunos pacientes requerían de dosis mayores de isoniazida para obtener efectos

terapéuticos deseables. Debido a lo anterior se hicieron investigaciones sobre el metabolismo de la isoniazida en humanos. Algunos investigadores demostraron que la velocidad de inactivación de la isoniazida dependía de la velocidad de su acetilación (White y Evans, 1964).

Estos hallazgos impulsaron una serie de investigaciones destinadas a encontrar la explicación de tales discrepancias. Así, las primeras evidencias respecto de la base genética del polimorfismo en el metabolismo de la isoniazida en el hombre, provienen de la observación de que el fármaco aparece en la orina y plasma en forma inalterada y acetilada mostrando una distribución bimodal (Hughes y col., 1955 and Evans y col., 1960).

2.1.1 Base genética de la bimodalidad en la reacción de acetilación

Desde el punto de vista genético, la explicación de las citadas diferencias en el metabolismo por acetilación de diversos fármacos, está dada por la existencia de tres genotipos para esta reacción: los acetiladores lentos son homocigotos recesivos (rr), mientras que los acetiladores rápidos son homocigotos (RR) o heterocigotos (Rr). Los homocigotos rápidos metabolizan el fármaco algo más rápido que los heterocigotos. El polimorfismo genético, esta controlado por dos genes alélicos autosómicos con un locus único, identificados por R (rápidos) y r (lentos) (Clark, 1985; Evans y cols., 1960; Herbert y Weber, 1986; Jenne, 1960; Meyer y cols.,

1990; Sunahara y cols., 1961).

2.1.2 Bimodalidad en el metabolismo de las sulfonamidas

Además de la isoniazida, un grupo de fármacos en los cuales también se encontraron diferencias interindividuales en la velocidad del metabolismo por acetilación, fueron las sulfonamidas. De este modo, se dirigió entonces la atención hacia estos compuestos. Se reemplazó así el uso de la isoniazida por la sulfametazina (SMZ) como marcador para caracterizar el fenotipo acetilador, debido a que la acetilación de SMZ es rápida (Evans y cols., 1960). La variabilidad entre individuos para la acetilación de las sulfonamidas fue confirmada posteriormente. Subsecuentemente, algunos voluntarios sanos fueron caracterizados fenotípicamente con isoniazida mostrando un polimorfismo similar que aquel encontrado para la acetilación de SMZ (Evans y David, 1989).

En términos generales, la bimodalidad del metabolismo por acetilación en humanos es común para un número considerable de fármacos (Bratton y Marshall, 1939; Chapron y col., 1980; Evans y David, 1989).

2.1.3 Mecanismo de la acetilación

La acetilación se lleva a cabo por un mecanismo de reacción de Bi-Bi (ping pong). Es una reacción de doble desplazamiento, en la cual el sustrato oscila entre la forma libre y la acetilada. Esta

reacción tiene dos sustratos y dos productos de reacción. Primero se transfiere el grupo acetilo (Ac) desde la acetil Coenzima A (Ac-CoA) hacia la enzima (NAT) para formar un intermediario enzima-acetil (Ac-NAT) unido covalentemente. En el segundo paso se lleva a cabo la acetilación del sustrato con la regeneración de la enzima libre (Meyer y cols., 1990; Weber, 1986).



Con respecto a la SMZ, se ha observado que es metabolizada principalmente por reacciones de acetilación llevadas a cabo por el sistema enzimático N-acetiltransferasa (NAT) hepática y por reacciones de hidrólisis. El metabolito resultante de la acetilación de SMZ es la N-acetilsulfametazina (véase la figura 1).

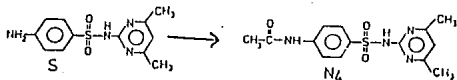


Figura 1. Estructura química la SMZ (S) y su correspondiente metabolito acetilado (N4)

2.1.4 Modelos hereditarios

Las primeras evidencias sugieren que las diferencias hereditarias en la acetilación se asocian a su vez con diferencias en la estructura y cantidad de la enzima acetiladora (Weber, 1986). Estudios cinéticos con N-acetiltransferasa hepática parcialmente purificada sugirieron que la cantidad de la enzima es variable en los dos fenotipos, que la afinidad para cada sustrato es similar y que la actividad catalítica de la enzima es 100 veces superior en los acetiladores rápidos (Herbert y Weber, 1986; Meyer y cols., 1990).

Existen 4 modelos provisionales que explican las diferencias hereditarias en la acetilación para sustratos monomórficos y polimórficos.

Las características del Modelo I son las siguientes:

- 1.- Los acetiladores lentos y rápidos tienen N-acetiltransferasa con idéntica especificidad catalítica para sustratos polimórficos.
- 2.- El acetilador rápido tiene mayor cantidad de enzimas que los acetiladores lentos.

Las características del Modelo II son las siguientes:

- 1.- Los acetiladores lentos y rápidos tienen distinta N-acetiltransferasa hepática con diferente actividad catalítica en sustratos polimórficos. La diferencia en la actividad es

debido a una variante estructural en la forma de la enzima.

- 2.- El hígado de ambos acetiladores tienen la misma cantidad de una distinta N-acetiltransferasa monomórfica.

Las características del Modelo III son las siguientes:

- 1.- Los acetiladores lentos y rápidos tienen una especie de N-acetiltransferasa, que cataliza sustratos polimórficos y monomórficos.
- 2.- Los acetiladores lentos tienen otra N-acetiltransferasa que acetila sustratos monomórficos más marcadamente que a los sustratos polimórficos.

El Modelo IV tiene la siguiente característica:

- 1.- El hígado de los acetiladores rápidos y lentos tienen distinta isoenzima N-acetiltransferasa que son estructuralmente diferentes entre sí.

2.1.5 Variación étnica y geográfica

La distribución de los fenotipos acetiladores lentos y rápidos varía marcadamente de acuerdo al grupo étnico y al origen geográfico de la población bajo estudio. Esto se puede apreciar en la tabla I.

Tabla I. Distribución del fenotipo de acetilador rápido de acuerdo al grupo étnico (Tomado de McQueen, 1980).

Grupo Etnico	Acetiladores Rápidos (%)
Originarios de Asia	
Canadienses esquimales	95-100
Coreanos	93
Japoneses	88-90
Filipinos	72
Originarios de Africa	
Africanos	43-51
Negros del sur de Africa	59
Negros americanos	49-58
Originarios de Europa	
América Latina	67
Italianos	51
Alemanes	43
Canadiense	30-41
Blancos de USA	51
Griegos de USA	40
Italianos de USA	36
Checoslovacos	40
Británicos	38-47
Originarios del Mediterráneo	
Egipcios	18

En lo que se refiere a la caracterización del fenotipo acetilador en la población mexicana, los resultados generados por varios estudios no son consistentes. Así, por ejemplo, de un grupo de 25 pacientes mexicanos con lupus eritematoso sistémico a los que se trató con isoniazida, se reportó un 100% de acetiladores lentos (Fishbein y Alarcón-Segovia, 1976). En este mismo trabajo y en un grupo de 153 pacientes con tuberculosis, se reportó la misma

proporción de acetiladores rápidos y lentos (Fishbein y Alarcón-Segovia, 1976). Más recientemente, durante un estudio para determinar la proporción del fenotipo de acetiladores en la población del noroeste de México García y Hernández-Rodríguez (1988) reportaron un 36% de acetiladores rápidos. Posteriormente, en un estudio realizado con 100 voluntarios sanos a los cuales se les administró SMZ por vía oral, se encontró que, en la población estudiada, predominaron los acetiladores rápidos, pero no se reporta el porcentaje obtenido (Díaz y cols., 1989).

2.1.6 Consecuencias farmacológicas y toxicológicas del fenotipo acetilador

La importancia que tiene el conocimiento de la bimodalidad en el fenotipo de las reacciones de acetilación de los fármacos en una población determinada, es debido a la asociación que se presenta entre la toxicidad y el fenotipo acetilador. Se ha observado que en los acetiladores rápidos existe una mayor incidencia de hepatitis, diabetes y cáncer producido principalmente por aminas carcinogénicas como b-naftilamina y 2-aminofluoreno que son polimórficamente acetiladas en humanos. Es importante señalar que estos compuestos se encuentran en el medio ambiente, principalmente en aquellas industrias en donde se utilizan (Glowinski y cols., 1978). También se ha observado que requieren de dosis altas de algunos fármacos para obtener efectos terapéuticos. Esto se debe a que el fármaco se acetila rápidamente. Por otra parte se ha visto que a los acetiladores lentos la incidencia de enfermedades como el

lupus eritematoso sistémico inducida por dosis convencionales de hidralazina y procainimida es mayor. El mismo perfil ha sido también observado en pacientes con polineuropatía que habían sido tratados con dosis convencionales de isoniazida. Esta toxicidad puede ser reversible si se administra piridoxina (Ver tabla II).

Tabla II. Posibles consecuencias terapéuticas o tóxicas del fenotipo acetilador (Tomado de Lunde y col., 1977).

Fármaco	Fenotipo	Efectos Observados
Isoniazida	Lento	Lupus Eritematoso Sistémico Neuropatía Periférica Predisposición a desarrollar efectos adversos cuando se administra junto con fenitoína.
	Rápido	Hepatitis
Procainimida	Lento	Lupus Eritematoso Sistémico
	Rápido	Se requieren dosis altas para mantener una concentración estable en el suero.
Hidralazina	Lento	Lupus Eritematoso Sistémico.
	Rápido	Se requieren de dosis altas para controlar la hipertensión.
Sulfametazina	Lento	No se ha reportado.
	Rápido	No se ha reportado.
Dapsone	Lento	Efectos hematológicos

UBICACION Y JUSTIFICACION DE LA TESIS

1. UBICACION DEL TRABAJO

Debido a la importancia que reviste el conocimiento de las características farmacogenéticas de la población mexicana, el presente trabajo pretendió determinar la proporción del fenotipo acetilador rápido y lento en un grupo de voluntarios sanos tomados de la población mexicana. El fármaco que se utilizó como marcador fué la SMZ.

El criterio para distinguir el fenotipo acetilador utilizando a la SMZ como marcador, considera que el acetilador rápido es aquel que excreta más del 70% de SMZ acetilada en la orina. Asimismo, el acetilador lento es el que excreta menos del 70% de SMZ acetilada en la orina en un período de 6 horas (Bratton y Marshall, 1939; Nhachi, 1988; Schoeder, 1972; Vree y cols., 1986).

2. JUSTIFICACION

Es importante señalar que el uso de los fármacos en México; está basado en la información generada en poblaciones diferentes a la mexicana (norteamericana y europea). En algunos casos el esquema de dosificación empleado en mexicanos, genera niveles plasmáticos similares a otras poblaciones (Flores-Murrieta y cols., 1990). Sin embargo, en otros casos se observan diferencias notables al

comparar mexicanos contra otras poblaciones (Hoyo-Vadillo y cols., 1989). Dada la gran variabilidad que existe en la acetilación es necesario el estudio en una población mexicana, para generar información aplicable en la terapéutica. Asimismo, las implicaciones clínicas de una u otra modalidad en la acetilación de fármacos pueden tener una gran repercusión. En este sentido, por ejemplo, los acetiladores lentos tienen mayor tendencia a acumular el fármaco y manifestar, por lo tanto, mayores efectos tóxicos que los acetiladores rápidos con la misma dosis del compuesto. En contraparte, los acetiladores rápidos necesitan dosis más elevadas o más frecuentes para conservar niveles terapéuticamente eficaces.

Debido a lo anterior se decidió realizar un estudio en una población mexicana, con el fin de clasificar la distribución de frecuencias de los fenotipos acetiladores.

Se empleó para ello a la SMZ ya que es un buen marcador para determinar el fenotipo acetilador, además de no producir efectos tóxicos por tener un amplio margen de seguridad y ser estable. Adicionalmente, el método para determinar el fenotipo acetilador es rápido y sencillo, y es el método más usado en otras poblaciones, por lo que puede ser más comparativo.

OBJETIVO

En base a los antecedentes expuestos, el objetivo de esta tesis fué la caracterización fenotípica de acetiladores lentos y rápidos en voluntarios sanos de una población mexicana.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

1. *Sujetos de estudio*

En este estudio participaron 70 voluntarios 50 hombres y 20 mujeres de origen mestizo, cuyos datos demográficos se muestran en la tabla III. Su estado de salud se determinó por historia clínica y solo se incluyeron aquellos sujetos que no tuvieran antecedentes de padecimiento renal o hepático. El manejo de los voluntarios se llevó a cabo en el Hospital General "Dr. Miguel Silva" de Morelia y en el CINVESTAV-IPN del Distrito Federal. El estudio fue realizado según las recomendaciones de la Declaración de Helsinki (Goldstein y col., 1974). El protocolo fue aprobado por el Comité de Etica del hospital y una vez leído los participantes dieron su aprobación por escrito.

Las restricciones específicas para este estudio fueron: No tomar ningún medicamento, ni bebidas que contuvieran cafeína, al menos una día antes y durante el estudio.

A los voluntarios se les administró una dosis de 500 mg de la sal sódica de SMZ (dos cápsulas). La dosis y el tiempo de recolección de muestras de orina utilizadas para la determinación del fenotipo acetilador fue en base a trabajos publicados anteriormente (Bratton y Marshall, 1939; Chapron y Blum, 1975; Nhachi, 1988).

2. Protocolo experimental

Los voluntarios se presentaron con previo ayuno de 12 horas. Los sujetos ingirieron 200 ml de agua una hora antes de la administración de la SMZ, con el fin de realizar un vaciado completo de vejiga inmediatamente antes de la administración del fármaco. De esa orina se tomó una alícuota de 5 ml que se utilizó como muestra blanco para la calibración del método de determinación de SMZ y su metabolito.

A cada sujeto se le administró una dosis de 500 mg de la sal sódica de SMZ (dos cápsulas), con 200 ml de agua. Los voluntarios permanecieron en las instalaciones por un período de 7 horas y se tomaron las muestras de orina durante 6 horas posteriores a la administración de las cápsulas, verificando que el vaciado de vejiga fuera completo al final del período. Se midió el volumen de orina y de la muestra total se tomó una alícuota de 5 ml para su posterior análisis.

Tabla III. Datos demográficos de los voluntarios que participaron en el estudio.

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (Kg)	Talla (cm)	Lugar nacimiento
1	M	19	70.5	175	MORELIA, MICH.
2	M	19	74	180	MORELIA, MICH.
3	M	19	63	168	MORELIA, MICH.
4	M	19	65.5	169	MORELIA, MICH.
5	M	19	71	175	MORELIA, MICH.
6	M	18	56.2	173.5	MORELIA, MICH.
7	F	21	53.5	153	MORELIA, MICH.
8	M	19	65.5	176	MORELIA, MICH.
9	F	33	43.5	150	N. ITALIA, MICH.
10	F	19	51.5	154	MEXICO, D.F.

11	M	18	59	165	MORELIA, MICH.
12	M	18	57.5	165	MORELIA, MICH.
13	F	25	53.5	158.5	ZITACUARO, MICH.
14	M	18	54	163	ZITACUARO, MICH.
15	M	21	65	168	MAZATLAN, SIN.
16	M	18	58	173	CELAYA, GTO.
17	M	27	60.5	165	ZACAPU, MICH.
18	F	19	57	164	HUETAMO, MICH.
19	M	18	63	173	HUETAMO, MICH.
20	M	22	62	167	MORELIA, MICH.
21	M	32	57	156	MORELIA, MICH.
22	F	22	65	163.5	MORELIA, MICH.
23	F	22	45	154	CELAYA, GTO.
24	M	18	65.6	172	ZITACUARO, MICH.
25	M	21	64.5	160	N. ITALIA, MICH.
26	M	25	86.5	176.5	MORELIA, MICH.
27	M	29	66.4	172	URUAPAN, MICH.
28	M	28	59	167.5	MORELIA, MICH.
29	F	22	51.7	154.2	ZINAPECUARO, MICH.
30	M	21	62.2	172.5	MORELIA, MICH.
31	M	22	59	160	MORELIA, MICH.
32	F	24	68	160.5	MORELIA, MICH.
33	M	30	58	159	MORELIA, MICH.
34	F	27	50	153	HUETAMO, MICH.
35	M	20	53.4	163	SN. FELIPE, MICH.
36	M	23	65	170	ZITACUARO, MICH.
37	M	21	60	170	MORELIA, MICH.
38	M	21	65	170	HUETAMO, MICH.
39	M	18	79.8	180	MORELIA, MICH.
40	M	21	68	181	MORELIA, MICH.
41	M	23	74.7	187	MORELIA, MICH.
42	M	30	76	182	CD. OREGON, SON.
43	M	36	72	174	MEXICO, D.F.
44	F	26	51	155	TIHUATLAN, VER.
45	M	30	65	173	COTIJA, MICH.
46	M	39	71	163	MEXICO, D.F.
47	M	35	65	170	TLAXCALA, TLAX.
48	M	28	80	170	MEXICO, D.F.
49	M	32	73	180	MEXICO, D.F.
50	M	36	63	165	PACHUCA, HGO.
51	F	20	64.2	157	ZITACUARO, MICH.
52	F	18	51.6	157	ZITACUARO, MICH.
53	F	18	51	158	ZITACUARO, MICH.
54	M	23	72	172	MORELIA, MICH.
55	M	18	56.8	166	MORELIA, MICH.
56	M	19	76.5	169	URUAPAN, MICH.
57	M	20	82	176	TOLUCA, EDO. MEX.
58	M	18	57	162	URUAPAN, MICH.
59	M	18	54.5	169	LOS REYES, MICH.
60	F	22	54	149	ZAMORA, MICH.
61	F	23	41.5	141	PICHATARO, MICH.
62	F	20	69	163	SN. MIGUEL, GTO.

63	F	24	55.5	161.5	PATZCUARO, MICH.
64	M	24	80.5	166	ARCELIA, GRO.
65	M	25	52.5	161	PLAYA AZUL, MICH.
66	F	21	67.2	162	MORELIA, MICH.
67	M	21	56	158	CD. VALLE, S.L.P.
68	F	23	49	160	MORELIA, MICH.
69	M	23	62	163	CONDEMBANO, MICH.
70	M	20	61	172	MORELIA, MICH.

PROMEDIO		22.99	62.25	165.87	
ET		0.614	1.129	1.048	

La recolección de las muestras se llevó a cabo en las ciudades de Morelia, Michoacán y en México, D.F. como se muestra en la figura 2. De los voluntarios que participaron en el estudio la mayoría son del estado de Michoacán, sin embargo, también participaron voluntarios originarios de otros estados de la República Mexicana como: Veracruz, Tlaxcala, Guanajuato, Hidalgo, Sonora, Sinaloa, San Luis Potosí, Estado de México, Guerrero y el Distrito Federal como se muestra en la figura 3.



Figura 2. Sitios donde se realizó la toma de muestras de orina de los voluntarios, para la determinación del fenotipo acetilador, siendo las ciudades de Morelia, Michoacán y México, D.F.

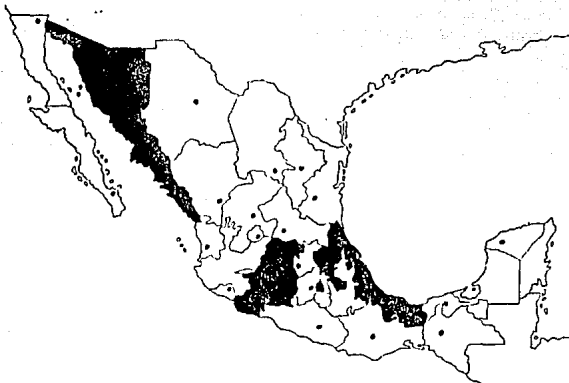


Figura 3. En este mapa se muestran los lugares de nacimiento de los voluntarios que participaron en la determinación del fenotipo acetilador, siendo los estados de: Michoacán, Veracruz, Tlaxcala, Guanajuato, Hidalgo, Sonora, Sinaloa, San Luis Potosí, Estado de México, Guerrero y Distrito Federal.

3. Análisis de muestras.

El análisis de SMZ libre y total en muestras de orina se realizó por el método de Bratton-Marshall, el cual se basa en la producción de una reacción colorida que se mide espectrofotométricamente. Previamente se realizó un barrido de longitudes de onda para determinar aquella a la cual la absorción del producto de la reacción de SMZ fuera máxima como se muestra en la figura 4.

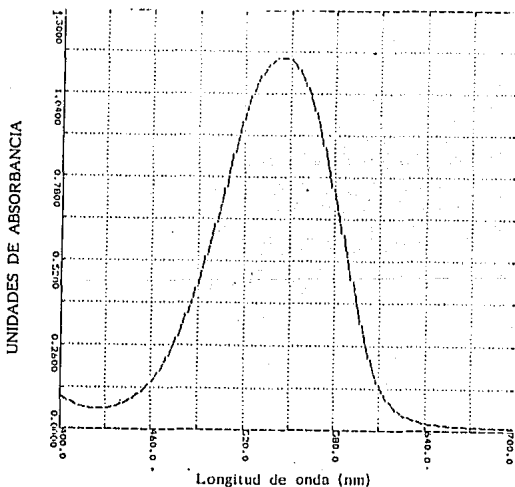


Figura 4. Espectro de absorción característico del producto de la reacción de concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$ para la determinación de SMZ.

El método utilizado para la determinación de SMZ se describe a continuación.

3.1 *Sulfametazina libre (No metabolizada)*

1. En tubos de ensayo se colocaron 0.5 ml de muestra de orina, se le añadieron 1.66 ml de ácido tricloroacético al 20% y 5 ml de agua.
2. Se dejaron reposar los tubos de ensayo con la mezcla durante 5 min y se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 min, en un centrifuga modelo KIEC (International Centrifuge, Boston, MA, EUA).
3. Se tomaron 1.5 ml del sobrenadante.
4. Se agregaron 0.2 ml de nitrito de sodio al 0.1% (p/v) y se dejó reposar durante 3 min.
5. Se agregaron 0.2 ml de sulfamato de amonio al 0.5% (p/v) y se dejó reposar durante 3 min.
6. Se agregó 1 ml de clorhidrato de N-1 (naftil)etilendiamina al 0.05% (p/v).
7. Se dejó reposar durante 10 min.
8. Se leyó la absorbancia a 544 nm en un espectrofotómetro Beckman modelo DU-65 (Fullerton, CA, EUA) contra un blanco de agua.

3.2 *Sulfametazina total*

Para la determinación de SMZ total se realizó una hidrólisis ácida de la SMZ acetilada en orina.

1. Se tomaron 1.5 ml del sobrenadante obtenido en los pasos 1 y 2 de SMZ libre y se agregaron 0.2 ml de

HCl 4N.

2. Se colocaron los tubos en baño María a ebullición durante 1.5 horas.
3. Se agregaron 0.2 ml de nitrito de sodio al 0.1% (p/v) y se dejó reposar durante 3 min.
4. Se agregaron 0.2 ml de sulfamato de amonio al 0.5% (p/v) y se dejó reposar durante 3 min.
5. Se adicionó 1 ml de clorhidrato de N-1 (naftil)etilendiamina al 0.05% (p/v).
6. Se dejó reposar durante 10 min.
7. Se leyó la absorbancia a 544 nm, en un espectrofotómetro Beckman modelo DU-65 contra un blanco de agua.

Para evaluar la linealidad del método se realizaron curvas de calibración en el intervalo de concentraciones esperadas (2,5,10,20 y 50 $\mu\text{g/ml}$), siguiendo el método anteriormente descrito.

3.3 Determinación de SMZ en Orina

La calibración del método para la determinación de SMZ se realizó mediante la adición de concentraciones conocidas de dicho compuesto a orina libre de fármacos que posteriormente se sometieron al proceso de análisis descrito en material y métodos.

Para considerar el método como adecuado, se tenían que cubrir los

criterios de linealidad, especificidad y reproducibilidad. Para cumplirlos se realizaron curvas de calibración que consistieron en graficar la absorbancia generada a diferentes concentraciones de SMZ, que se muestran en la figura 5. Se pudo observar claramente que el comportamiento observado fué completamente lineal y estuvo descrito por la ecuación $y = 0.061X + 0.0215$ ($r=0.997$).

Adicionalmente, se realizó una grafica de la concentración añadida de SMZ contra la concentración medida por el método analítico (ver figura 6). También en este caso se observó que el comportamiento fué completamente lineal. La pendiente observada (promedio \pm error estándar) fue de 0.9979 ± 0.01279 y el valor obtenido cuando la concentración añadida fué de cero (obtenido por la regresión lineal) fué de 0.2550 ± 0.2875 . Al comparar la pendiente y la intersección obtenidas con los hipóteticos esperados (1 y 0 respectivamente), se observó que no hubo diferencia estadísticamente significativa, lo que permite concluir que el método reúne los criterios de linealidad y especificidad adecuados. La precisión del método se evaluó por quintuplicado y se observó que en general el método fué preciso ya que el coeficiente de variación fue siempre menor al 8% (ver tabla IV).

Para determinar la exactitud del método se utilizaron los datos de las concentraciones medidas obtenidas en las curvas de calibración. Se evaluó la exactitud del método comprando, mediante una prueba de t de Student, el valor esperado contra el valor real. Se observó que el método es exacto ya que no se encontró diferencia estadísticamente significativa a ninguna concentración (ver tabla

v).

Tabla IV. Precisión del método de SMZ.

n	Concentración añadida ($\mu\text{g/ml}$)	Concentración medida ($\mu\text{g/ml}$)	C.V. (%)
5	2	2.0775	7.99
5	5	4.8920	7.03
5	10	10.518	2.04
5	20	21.069	6.37
5	50	49.798	1.23

El coeficiente de variación se calculó de acuerdo a la siguiente formula:

$$\text{C.V.} = \frac{\text{Desviación estándar}}{\text{Media}} \times 100$$

Tabla V. Exactitud del método de SMZ.

Concentración añadida ($\mu\text{g/ml}$)	Concentración medida ($\mu\text{g/ml}$)	Exactitud (%)	Diferencia Estadística*
2	2.078 \pm 0.074	103.67 \pm 4.2	n.s.
5	4.894 \pm 0.153	98.09 \pm 3.5	n.s.
10	10.518 \pm 0.096	105.18 \pm 2.4	n.s.
20	21.069 \pm 0.060	105.35 \pm 3.4	n.s.
50	49.798 \pm 0.273	99.60 \pm 0.6	n.s.

* Se consideró una $p < 0.05$ para ser significativamente diferente.
n.s. no diferencia significativa.

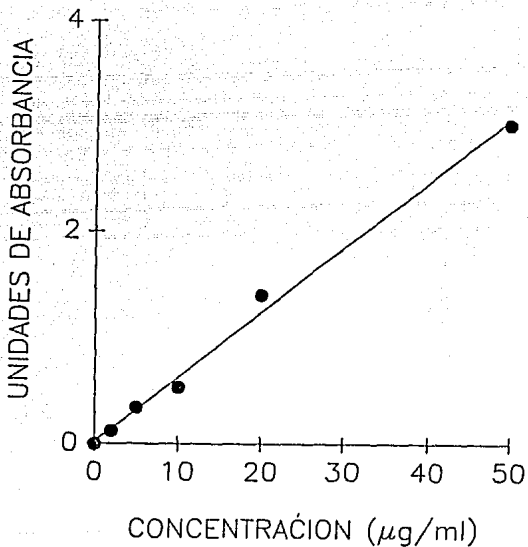


Figura 5. Curva de calibración de SMZ, en el intervalo de concentraciones esperadas. Se realizó un gráfico de las concentraciones de SMZ contra la absorbancia leída. Cada punto es el promedio de 5 determinaciones \pm el error estándar.

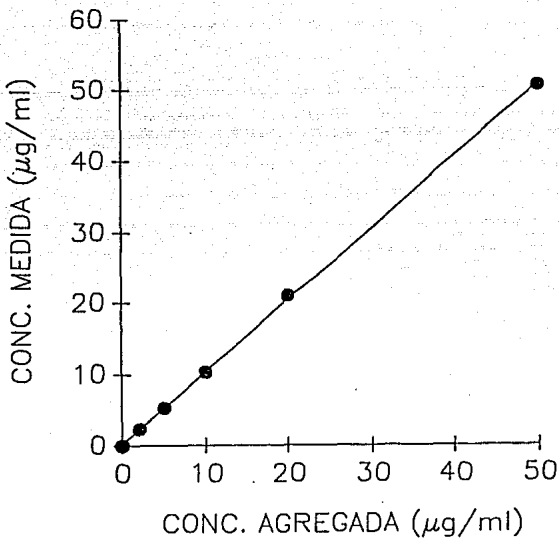


Figura 6. Curva de exactitud y linealidad del método para la determinación de SMZ, en el intervalo de concentraciones medidas. Se realizó un grafico de concentraciones agregadas contra concentraciones medidas de SMZ. Cada punto es el promedio de 5 determinaciones \pm el error estándar.

4. Cinética de acumulación de sulfametazina en orina

Con el fin de analizar los resultados obtenidos en el presente trabajo y verificar si el período de recolección de orina de 6 horas era la adecuada y así comparar los con los resultados de trabajos previamente reportados, se realizó la cinética de SMZ con un voluntario sano acetilador rápido, siguiendo el protocolo experimental anterior, con un período de recolección de muestra de 48 h con intervalos de tiempo de 0-1, 1-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-12, 12-24, 24-36, 36-48 h, verificando que el vaciado de vejiga fuera completo al final de cada período de muestreo. La determinación de SMZ acetilada y total se realizó utilizando la metodología previamente descrita.

5. Análisis Estadísticos y Farmacocinéticos

5.1 Fenotipo acetilador

Para determinar el porcentaje de SMZ acetilada se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ DE SMZ ACETILADA} = ((T-L)/T) \times 100$$

donde: T= SMZ total.

L= SMZ libre (no metabolizada)

5.2 Polimorfismo genético

Para determinar si los resultados obtenidos presentan distribución bimodal, se hicieron distribución de frecuencias, distribución de frecuencias acumuladas y un análisis probit.

El análisis probit es una transformación de los datos porcentuales de una población para estimar si ésta es normal o bimodal.

Para construir la gráfica probit contra por ciento de acetilación se prosiguió de la siguiente manera:

- 1.- Después de obtener el por ciento de acetilación de cada sujeto, se ordenaron los datos en orden ascendente.
- 2.- Se obtuvo el por ciento de la frecuencia relativa acumulada de cada sujeto.
- 3.- El por ciento de la frecuencia relativa acumulada de cada sujeto, corresponde a un valor de la tabla de probit (Tallarida y Murray, 1981). Dichos valores son los que se utilizaron para construir la gráfica.

5.3 Farmacocinética

Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos para SMZ acetilada y SMZ total: constante de eliminación (k), y tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$), por el método de excreción urinaria acumulativa.

Para obtener los parámetros farmacocinéticos anteriores se realizó un grafico de el logaritmo de la velocidad de excreción contra tiempo. De la fase terminal de eliminación se hace una regresión

líneaal y la pendiente de esta regresión representa la constante de eliminación (k), como se muestra en la figura 5. Para calcular el tiempo de vida media de eliminación se divide logaritmo natural de 2 sobre la constante de eliminación.

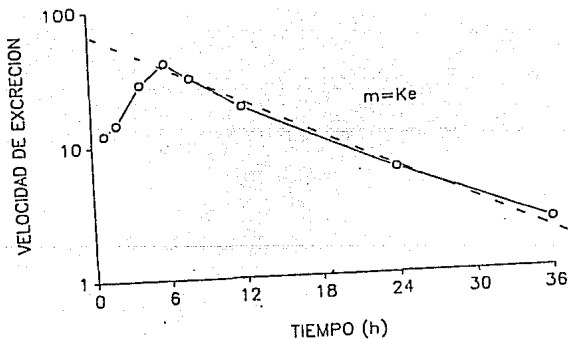


Figura 7. Gráfica de la velocidad de excreción contra tiempo, la k , es obtenida de la pendiente de la regresión de la fase de eliminación. La línea de regresión esta indicada con la línea punteada.

CAPITULO III

RESULTADOS

CAPITULO III

RESULTADOS

1. Caracterización del fenotipo acetilador

En la tabla V se muestra el porcentaje de SMZ acetilada y la clasificación de fenotipo acetilador en cada uno de los 70 sujetos que participaron en el estudio.

Tabla VI. Porcentaje de acetilación y clasificación del fenotipo acetilador en cada uno de los sujetos que participaron en el estudio.

Sujeto	% Acetilacion	Fenotipo
1	90.85	RAPIDO
2	91.65	RAPIDO
3	73.16	RAPIDO
4	66.55	LENTO
5	98.53	RAPIDO
6	83.10	RAPIDO
7	95.93	RAPIDO
8	63.95	LENTO
9	17.12	LENTO
10	85.99	RAPIDO
11	97.81	RAPIDO
12	67.63	LENTO
13	91.09	RAPIDO
14	91.26	RAPIDO
15	100	RAPIDO
16	97.61	RAPIDO
17	78.31	RAPIDO
18	72.61	RAPIDO
19	68.85	LENTO
20	81.94	RAPIDO
21	56.04	LENTO
22	77.78	RAPIDO
23	85.80	RAPIDO
24	91.35	RAPIDO
25	88.08	RAPIDO
26	70.69	RAPIDO
27	62.60	LENTO
28	63.37	LENTO
29	88.23	RAPIDO
30	95.76	RAPIDO

31	76.11	RAPIDO
32	97.54	RAPIDO
34	69.91	LENTO
35	98.22	RAPIDO
36	95.77	RAPIDO
37	97.52	RAPIDO
38	70.06	RAPIDO
39	81.28	RAPIDO
40	95.03	RAPIDO
41	99.53	RAPIDO
42	71.94	RAPIDO
43	69.56	LENTO
44	95.57	RAPIDO
45	93.31	RAPIDO
46	74.78	RAPIDO
47	63.13	LENTO
48	89.20	RAPIDO
49	54.44	LENTO
50	91.44	RAPIDO
51	45.48	LENTO
52	85.44	RAPIDO
53	78.89	RAPIDO
54	92.03	RAPIDO
55	72.77	RAPIDO
56	88.30	RAPIDO
57	84.02	RAPIDO
58	71.09	RAPIDO
59	12.50	LENTO
60	91.03	RAPIDO
61	68.93	LENTO
62	49.68	LENTO
63	89.54	RAPIDO
64	59.68	LENTO
65	81.72	RAPIDO
66	88.76	RAPIDO
67	95.76	RAPIDO
68	88.36	RAPIDO
69	70.79	RAPIDO
70	90.25	RAPIDO

En la tabla VII se muestra el número y el porcentaje de diferentes tipos de acetiladores. Se observa claramente que hay una predominancia de acetiladores rápidos.

Tabla VII. Porcentaje y número del fenotipo acetilador en 70 sujetos.

	Lentos	Rápidos
% de acetiladores	24.29	75.71
No. de acetiladores	17	53

Para ilustrar los datos de la tabla VI y VII se hizo una gráfica de los datos de frecuencia y porcentaje de acetilación, como se aprecia en la figura 8 y los datos de frecuencia acumulada contra el porcentaje de acetilación acumulada como se observa en la figura 9. En las dos figuras no se observa una clara bimodalidad; sin embargo en la figura 10 en la cual se gráfico el porcentaje de acetilación de cada uno de los sujetos que participaron en el estudio contra el probit se observa una antimoda alrededor del 70 %. El hecho que no se muestre una clara bimodalidad en las figuras 8 y 9 se debe al alto número de acetiladores rápidos que existen en la población estudiada.

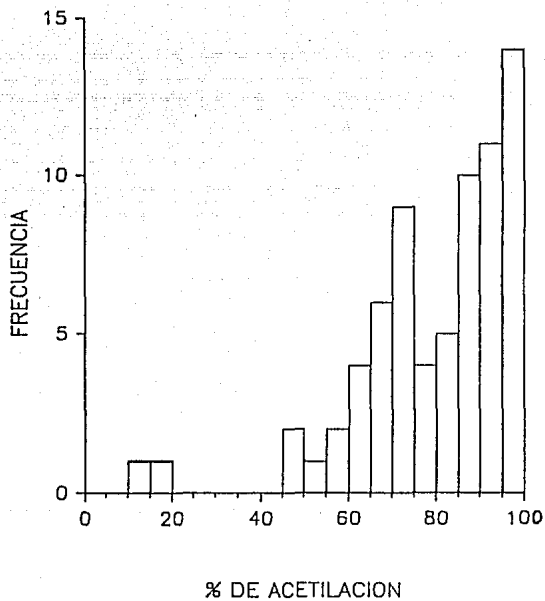


Figura 8. Histograma de frecuencia contra % de acetilación de 70 voluntarios.

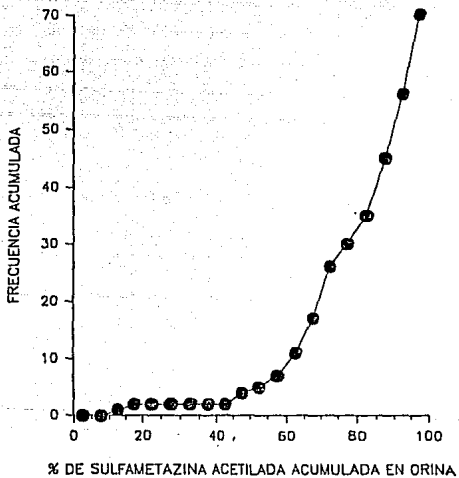


Figura 9. Gráfica de frecuencia acumulada contra % de acetilación acumulada de 70 voluntarios.

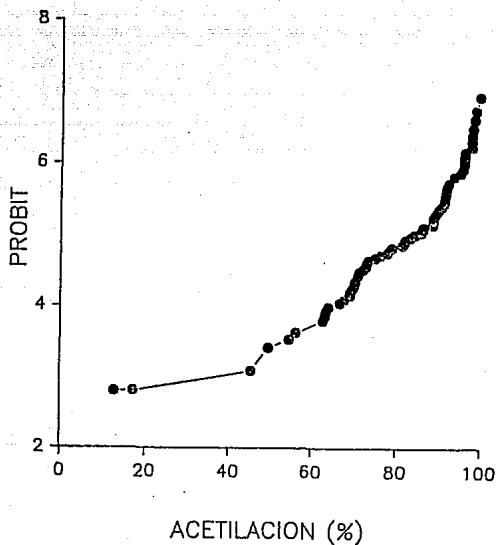


Figura 10. Gráfica del porcentaje de acetilación de cada uno de los sujetos que participaron en el estudio contra el probit.

3. Cinética de sulfametazina

Se siguió un estudio de cinética de excreción urinaria de SMZ en un voluntario acetilador rápido. En la figura 11 y 12 se hicieron graficas de la cantidad acumulada excretada de SMZ libre y total en el tiempo. Se observó que la cantidad acumulada de SMZ libre se incrementa rápidamente, mientras que la cantidad de SMZ total incrementa más lentamente. Se observa que la cantidad de SMZ libre y total se hace máxima aproximadamente a las 24 horas, siendo de 55 mg para SMZ total y de 3 mg para SMZ libre.

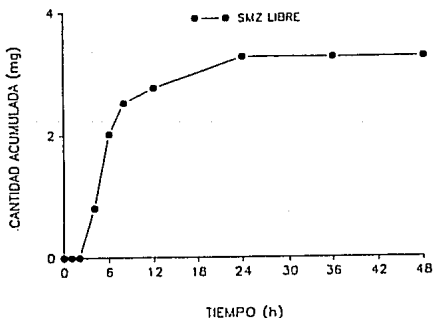


Figura 11. Cantidad acumulada de SMZ libre en función del tiempo, para un voluntario acetilador rápido.

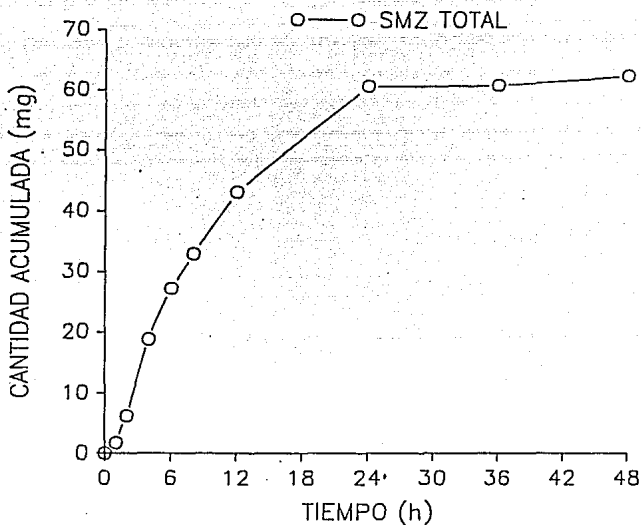


Figura 12. Cantidad acumulada de SMZ total en función del tiempo, para un voluntario acetilador rápido.

En la figura 13 se hizo un grafico de la velocidad de excreción urinaria de SMZ libre y total contra el tiempo; esto es necesario para calcular los parámetros farmacocinéticos (k , y $t_{1/2}$). La constante de eliminación (k) para SMZ libre fué de 0.1980 h^{-1} y para SMZ total de 0.1040 h^{-1} . La vida media de eliminación para SMZ libre fué de 3.5 h y para SMZ total de 6.7 h . Estos parámetros se muestran en la tabla VIII.

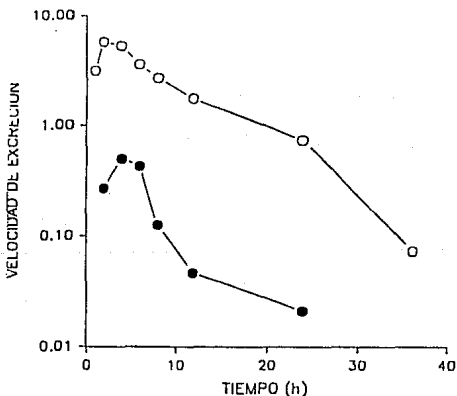


Figura 13. Logaritmo de la velocidad de excreción de SMZ libre y total en mg/h en función del tiempo de un voluntario.

Tabla VIII. Parámetros farmacocinéticos de SMZ libre y total de un voluntario acetilador rápido.

	k_e (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)
SMZ _i	0.1980	3.5
SMZ _r	0.1040	6.67

CAPITULO IV

DISCUSION

CAPITULO IV

DISCUSION

Como ya ha sido señalado previamente, el metabolismo tiene una importancia fundamental al considerar el efecto de los agentes químicos sobre el organismo. Desde este punto de vista, no solo los posibles efectos terapéuticos de un fármaco pueden verse alterados o modificados debido a la producción de metabolitos de actividad variable, sino también los efectos tóxicos potenciales. Aunque este aspecto del metabolismo de fármacos comúnmente se analiza y se considera cuando un nuevo compuesto se introduce en la terapéutica, las variaciones metabólicas de origen genético entre los individuos mexicanos de diversas poblaciones generalmente no se toman en cuenta durante el diseño y manufactura de formulaciones medicamentosas destinadas y canalizadas a una población o grupo étnico particular.

En este sentido, son notables las variaciones metabólicas interpopulacionales que se han reportado especialmente en el caso de aquellos compuestos que son metabolizados principalmente mediante la reacción de acetilación. Por ejemplo, se han detectado variaciones hasta de un 80% en la incidencia de los fenotipos acetiladores al comparar individuos provenientes de países mediterráneos (predominio del fenotipo acetilador lento) con aquellos de origen japonés (predominio del fenotipo acetilador

rápido)(McQueen, 1980). Adicionalmente, es conveniente señalar que el polimorfismo genético cobra también una importancia relevante al considerar el efecto de los agentes químicos presentes en el medio ambiente de las grandes ciudades y, especialmente, en las industrias cuyos desechos están constituidos principalmente por compuestos que son biotransformados por la acetilación.

En este sentido, desde hace casi cuarenta años ya se había descubierto que el tratamiento con isoniazida, un derivado de la hidrazina, se asocia con alteraciones y daño del sistema nervioso en pacientes inactivadores (acetiladores) "lentos" (véase Weber y Hein, 1985). Subsecuentemente, se han reportado variaciones en el efecto terapéutico y en la toxicidad no solo de otros derivados de la hidrazina, sino también de compuestos del grupo de las arilaminas como son las sulfonamidas, la procainamida y el ácido p-aminosalicílico y los agentes cancerígenos benzidina y 2-aminofluoreno entre otros (Weber y Hein, 1985). Estos compuestos tienen la característica de que todos son metabolizados mediante reacciones de acetilación. Aunque las variaciones metabólicas también han sido observadas en sustancias que son metabolizadas mediante otro tipo de reacciones (oxidación), el estudio del fenómeno de bimodalidad en la reacción de acetilación nos resultó mas accesible debido a las metodologías requeridas para tal fin. Asimismo, el polimorfismo genético de la acetilación cuenta con un mayor número de estudios que comparan la incidencia de los fenotipos acetiladores en grupos humanos de diverso origen étnico

y geográfico.

Consecuentemente y con base en las evidencias descritas con anterioridad, el propósito del presente estudio fué el de caracterizar la incidencia de acetiladores lentos y rápidos en una población mexicana. Esto se realizó mediante la administración de SMZ como marcador de acetiladores lentos o rápidos.

Aunque la isoniazida fué uno de los primeros fármacos que se utilizó como marcador del fenotipo acetilador, un grupo de fármacos de los que también se supo que se metabolizaban por acetilación fué el de las sulfonamidas. Una sulfonamida que presenta las mismas características de biotransformación de la isoniazida es la SMZ.

La sustitución de isoniazida por SMZ como marcador se realizó debido a que, previamente se habían reportado, y se encontraron resultados similares al utilizar la isoniazida y a la SMZ para caracterizar el fenotipo acetilador en una población utilizando el mismo grupo de voluntarios (Bratton y Marshall, 1939). Posteriormente, también se encontró que la SMZ presenta varias ventajas con respecto a la isoniazida: i) la acetilación de SMZ es más rápida; ii) no produce efectos tóxicos por tener un amplio margen de seguridad; iii) es más estable; iv) es más utilizada como marcador en otras poblaciones y por ello es de gran valor como índice de comparación.

Desde el punto de vista metodológico, es conveniente señalar que, cuando se utiliza a la SMZ como marcador el criterio para distinguir el fenotipo acetilador, se considera que el acetilador lento es aquel que tiene menos del 70% de SMZ acetilada en orina mientras que el acetilador rápido el que tiene más del 70%, 6 horas después de la administración del fármaco (Bratton y Marshall, 1939; Nhachi, 1988; Vree y Cols., 1986).

La proporción de acetiladores rápidos y lentos varía de acuerdo con los grupos étnicos y el origen geográfico. En nuestro estudio, la población analizada presentó un mayor porcentaje de acetiladores rápidos (76%). Estos datos no concuerdan con los reportados en un estudio anterior (García y Hernández-Rodríguez, 1988); en este trabajo los autores encontraron un 36% de acetiladores rápidos en una población del noroeste de México, es decir, encontraron un mayor porcentaje de acetiladores lentos. Nuestros resultados parecen ser similares a los obtenidos por Díaz y cols. (1989) quienes reportaron un predominio de acetiladores rápidos, sin embargo no se tiene la seguridad ya que no se reportó el porcentaje de incidencia de acetiladores rápidos.

Es importante señalar que para que un estudio sea representativo y confiable los voluntarios deben ser personas sanas y originarias del país en donde se está llevando a cabo el estudio. No obstante, existen también reportes del fenotipo acetilador en mexicanos con lupus eritematoso y tuberculosis. Por ejemplo, en un estudio

realizado con 25 pacientes con lupus eritematoso cuyo tratamiento era con isoniazida, se encontró que el total (100 %) eran acetiladores lentos; sin embargo, el estudio de 153 pacientes con tuberculosis tratados también con isoniazida detectó igual proporción de acetiladores rápidos y lentos (50:50) (Fishbein y Alarcón-Segovia, 1976).

Con respecto a las poblaciones latinoamericanas, el porcentaje de acetiladores rápidos que se ha reportado equivale al 67%; este valor es similar al porcentaje de acetiladores rápidos en la población mexicana estudiada (76%; estudio presente) y a la población de filipinas que tienen un 72% (Clark, 1985). No obstante, el porcentaje de acetiladores rápidos en otras poblaciones varía en forma importante. Por ejemplo, en los esquimales canadienses y en la población japonesa el porcentaje de acetiladores rápidos alcanza hasta un 95% y 90%, respectivamente, mientras que las poblaciones europeas presentan un 50% de cada fenotipo acetilador (Clark, 1985; Weber y Hein, 1985). En contraste, algunos países del mediterráneo como son Egipto (18-20%) (Clark, 1985; Weber y Hein, 1985) e Israel (25%) (Clark, 1985) tienen una cantidad mucho menor de acetiladores rápidos.

Existen algunas hipótesis que tratan de explicar las diferencias en la actividad catalítica de la enzima N-acetiltransferasa. Weber (1986) ha propuesto una disparidad en la estructura y cantidad de la enzima. Mas recientemente, Meyer y cols. (1990) en estudios

cinéticos con N-acetiltransferasa hepática parcialmente purificada, han sugerido que la cantidad de enzima puede variar de acuerdo al fenotipo pero que la afinidad para cada sustrato es similar. Adicionalmente, Herbert y Weber (1990) encontraron una mayor actividad catalítica de la enzima (del orden de 100 veces) en los acetiladores rápidos con respecto a los acetiladores lentos. La afinidad en ambos casos tuvo un valor similar.

En lo que concierne a la velocidad de eliminación de SMZ, ésta es una característica individual que varía de persona a persona y que está bajo control genético (Correira y Castagnoli, 1984). La relación que existe entre el polimorfismo genético y las reacciones adversas es mayor en los acetiladores lentos, esto se debe a que las reacciones adversas están relacionadas con la concentración del fármaco en el plasma. Asimismo, algunos padecimientos que parecen tener una asociación con el fenotipo acetilador lento son el cáncer de vejiga, el lupus eritematoso y algunos efectos hematológicos adversos. En el caso de los acetiladores rápidos, se ha reportado con mayor frecuencia la incidencia de hepatitis y de diabetes.

Con base en esta serie de hallazgos, es importante enfatizar que el cuadro de dosificación de muchos medicamentos en la República Mexicana está basado en los datos de otras poblaciones (norteamericana y europea) cuyas características genéticas difieren considerablemente de aquellas de la población mexicana, lo que nos lleva pensar seriamente a la necesidad de evaluar si los regímenes

de dosificación utilizados son los adecuados.

En lo que respecta a la farmacocinética de SMZ, en un voluntario acetilador rápido caracterizado anteriormente con la orina de 6 horas encontramos valores de $t_{1/2}$ de 1.9 y 6.67 horas para SMZ libre y total, respectivamente. Con base en los resultados reportados por otros investigadores, estos datos farmacocinéticos corresponden a los de un acetilador rápido lo que permite concluir que el método utilizado en este trabajo es aceptable. Así, Vree y Hekster (1986) encontraron un $t_{1/2}$ para SMZ libre y total de 3 y 5 horas, respectivamente, mientras que Oudtshoorn y Potgieter. (1971) reportaron un $t_{1/2}$ de 1.79 a 3.6 h para SMZ libre y de 4 a 5.5 horas para SMZ total. Es conveniente señalar que estos parámetros farmacocinéticos sirven como un indicador de bimodalidad y por ello son útiles para distinguir entre un acetilador rápido y uno lento.

En el caso de los acetiladores lentos, el $t_{1/2}$ de SMZ libre y total corresponde a 9 horas (Vree y Hekster, 1986).

Debido a que los valores de la farmacocinética de SMZ en nuestro estudio concuerdan con lo reportado en la literatura acerca de los acetiladores rápidos en otras poblaciones, podemos asumir que los resultados de nuestro trabajo son confiables.

CONCLUSION

Los resultados generados en la presente investigación permiten concluir que el fenotipo acetilador predominante en la población mexicana estudiada corresponde al del acetilador rápido, y es similar a lo que se ha descrito para latinoamericanos.

REFERENCIAS

- Benet L.Z. y Sheiner L.V.: Pharmacokinetics: The Dynamics Of Drug Absorption, Distribution and Elimination. En: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 7th. ed. Goodman & Gilman's. Macmillan Publishing Company. pp 3-34 (1985).
- Bratton C.A. y Marshall E.K.: A New Coupling Component For Sulfanilamide Determination. J Biol. Chem 1939; 128: 537-550.
- Bowman C.W. y Rand M.J.: Organización, Desarrollo, Tejidos y Enfermedades Genéticas. Farmacología. Segunda Edición. Editorial Interamericana. Capítulo 4 (1985).
- Chapron J.D., Kramer A.P. y Mercik S.B: Kinetic Discrimination Of Three Sulfamethazine Acetylation Phenotypes. Clin. Pharmacol. Ther. 1980; 27: 104-113.
- Chapron J.D. y Blum R.M.: The Use of Clearance Principles in Elucidating the Trimodal Acetylation of Sulfamethazine in Man. J. Clin. Pharmacol. 1975; 15: 554-555.
- Chapron J.D. y Blum R.M.: Relation of Sulfamethazine Disposition Kinetics to Acetylator Phenotype in Man. J. Clin. Pharmacol. 1976; 16: 338-344.
- Clark W.J.: Genetically Determined Variability in Acetylation and Implications: Therapeutic Implications. Drugs 1985; 29: 342-375.
- Correia A.M y Castagnoli N.: Farmacocinética II: Biotransformación de Fármacos. Farmacología Básica y Clínica. Primera ed. Katzung G.B. El Manual Moderno. pp 37-46 (1984).

- Díaz L.G., Sánchez R.M., Abundis C.O y Jung C.H.: Caracterización del Fenotipo para Acetilar Fármacos Utilizando Sulfametazina. Memorias del XXII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. Mazatlán, Sinaloa. 1989. pág.34.
- Drayer E.D. y Reidenberg M.M.: Clinical Consequences of Polymorphic Acetylation of Basic Drugs. Clin. Pharmacol. Ther. 1977; 23: 251-258.
- Evans D.A., Manley K.A. y Mckusick V.A.: Genetic Control of Isoniazid Metabolism in Man. Br. Med. J. 1960; 2: 485-491.
- Evans P. y David A.: N-Acetyltransferase. Pharmac. Ther. 1989; 42: 157-234.
- Fishbein E. y Alarcón-Segovia: Slow Acetylation Phenotype in Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis and Rheumatism 1979; 22: 95-96
- Flores-Murrieta F.J, Castañeda-Hernández G, Menéndez J.C., Chávez F., Herrera J.E. y Hong E.: Pharmacokinetics of Sulfamethoxazole and Trimethoprim in Mexicans: Bioequivalence of Two Oral Formulations (URO-TS D and Bactrim F). Biopharm. & Drug Dispos. 1990; 11: 765-772.
- García C.R. y Hernández-Rodríguez A.: Estudio del Fenotipo de Acetiladores en el Noroeste de México. Memorias del XXI Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. Puerto Vallarta, Jalisco. 1988. pág.45.
- Glowinski I.B, Radtke H.E. y Weber W.W.: Genetic Variation in N-acetylation of Carcinogenic Arylamines by Human and Rabbit. Molecular Pharmacol. 1978; 14: 940-949.

- Goldstein A., Aronow L. y Kalman M.S.: *Metabolismo de los Fármacos. Farmacología. Segunda ed. Limusa. pp 267-358 (1974).*
- Guttendorf J.R y Wedlund J.P.: *Genetic Aspects of Drug Disposition and Therapeutics. J. Clin. Pharmacol. 1992; 32: 107-117.*
- Herbert H.A. y Weber W.W.: *N-acetylation Pharmacogenetics. Drug Metab. and dis. 1986; 4: 382-385.*
- Hoyo-Vadillo C., Castañeda-Hernández G., Herrera J.E., Vidal-Gárate J., Moreno-Ramos A., Chávez F. y Hong E.: *Pharmacokinetics of Nifedipine Slow Release Tablet in Mexican Subjects: Further Evidence for an Oxidation Polymorphism. J. Clin. Pharmacol. 1989; 29: 816-820.*
- Hughes H. B., Schmidt L.H. y Biehl J.P.: *The Metabolism of Isoniazid, its Implications in Therapeutic Use. Chemother. Tuberc. 1955; 70: 217-22.*
- Jenne J.W.: *Studies of Human Patterns of Isoniazid Metabolism Using an Intravenous fall-off Technique with a Chemical Method. Am. Rev. 1960; 81: 1-8.*
- Kalow. W.: *Polymorphism in Human N-acetyltransferase-The Case of the Missing Allele. Trends Pharmacol. Sci. 1991; 12: 211-213.*
- Kalow. W.: *Interethnic Variation of Drug Metabolism. Trends Pharmacol. Sci. 1991; 12: 102-107.*
- Lunde P:K, Frislid K. y Hansteen V.: *Disease and Acetylation Polymorphism. Clinical Pharmacokinetics 1979; 2: 223-232.*
- McQueen E.G.: *Pharmacological Basis of Adverse Drug Reactions in Avery. Drug Treatment. 2nd ed. pp 202-235 (1980).*
- Meyer A., Zanger M.U., Grant D. y Blum M.: *Genetic Polymorphisms of*

- Drug Metabolism. *Advances in Drug Res.* 1990; 19: 197-241.
- Nhachi F.B.: Polymorphic Acetylation of Sulphamethazine in a Zimbabwe Population. *J. Med. Gen.* 1988; 25: 29-31.
- Oudtshoorn V. y Potgieter F.J.: Determination of Pharmacokinetic Parameters for Rapid and Slow Acetylators of Sulphadimidine. *J. Pharm. Pharmacol.* 1972; 24: 357-360.
- Peters H.J., Gordon R.G. y Brown P.: The Relationship Between The Capacities of Human Subjects To Acetylate Isoniazid, Sulfanilamide and Sulfamethazine. *Life Sci.* 1965; 4: 99-107.
- Price E. A.: N-Acetyltransferase. *Pharmacol. Ther.* 1989; 42: 157-234.
- Rao V.N., Mitchison D.A., Nair G.K., Prema K. y Tripathy S.P.: Sulphadimidine Acetylation Test for Classification of Patients as Slow or Rapid Inactivators of Isoniazid. *British Med. J.* 1970; 3: 495-497.
- Ritschel W.A.: Handbook of Basic Pharmacokinetics. Drug Intelligence Publication, Inc. Hamilton II. pp 1-15 y 133-157 (1982).
- Schoeder H.: Simplified Method for Determining Acetylator Phenotype. *British Med. J.* 1972; 3: 506-507.
- Souich P., Mclean J.A., Stoeckel K., Ohlendorf D. y Gibaldi M.: Screening Using Sulfamethazine for Determining Acetylator Phenotype. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1979; 26: 757-765.
- Sunahara S., Urano M. y Agama W.: Genetical and Geographical Studies on Isoniazid Inactivation. *Science* 1961; 134: 1530-1531.

- Tallarida R.J y Murray R.B.: Manual of Pharmacologic Calculation with Computer Programs. Springer-Verlag. New York, Heildein Berling, United States of America. 1981: 19.
- Vree T.B. y Hekster Y.A.: Pharmacokinetics of Sulfonamide Revisited. Antibiot. Chemother. 1985; 34: 1-30.
- Vree T.B., Hekster Y.A., Nouws F.M. y Baakman M.: Pharmacokinetics, Metabolism, and Renal Excretion of Sulfadimidine and Its N-Acetyl and Hydroxy Metabolites in Human. Ther. Drug Monitor. 1986; 8: 434-439.
- Vree T.B. y Hekster Y.A.: Clinical Pharmacokinetics of Sulfonamide and their Metabolites. Antibiot. Chemother. 1987; 37: 31-41.
- Weber W.W.: The Molecular Basis Hereditary Acetylation Polymorphisms. Am. Soc. Pharmacol. Exp. Ther. 1986; 14: 377-381.
- Weber W.W y Hein W.D.: N-Acetylation Pharmacogenetics. Am. Soc. Pharmacol. Exp. Ther. 1985; 37: 26-69.
- White T.A. y Evans D.A.: Human Acetylation Plimorphism. J. Lab. Clin. Med. 1964; 63: 394-402
- White T.A. y Evans D.A.: The Acetylation of Sulfamethazine and Sulfamethoxypridazine by Human Subjects. Clin. Pharmacol. Ther. 1987; 9: 80-88.
- William O., Micelli J. y Weber W.: Dose-Dependent Changes in Sulfamethazine Kinetics in Rapid and Slow Isoniazid Acetylators. Clin. Pharmacol. Ther. 1978; 23: 204-211.