

# Acetilación de isoniácida, su relación con factores genéticos y ambientales de altura

Acetylation of isoniazid, its relation with genetic and environmental altitude factors

GONZALO TABOADA LOPEZ,  
MARIA LUISA NAVARRO DE CLAURE

Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina,  
Casilla 3050, La Paz - Bolivia

Since the discovery of isoniazid in 1952, it has become apparent that there are considerable variations in the manner in which individuals react to the drug.

We studied 90 patients from La Paz (3.600 m. over sea level) and 50 patients from Santa Cruz (470 m. over sea level). Our results in the two groups tested suggest that the high altitude hypoxia increases the velocity of inactivation. Despite to the influence of hypoxia it was seen that both groups have the some frequency of rapid and slow inactivators.

## INTRODUCCION

Vogel, en 1959, introdujo el término "Farmacogenética" y lo definió como el estudio de variaciones genéticamente determinadas en especies animales y que son reveladas por el efecto de las drogas.

En la administración de drogas a los humanos estamos tratando solamente con un aspecto particular de la situación general que se da exclusivamente cuando agentes químicos extraños se introducen al organismo. Son bien conocidos los dos cambios que ocurren cuando se añade un agente antibacteriano al cultivo de bacterias (Work & Work, 1948). El primero es adaptativo y de aparición muy rápida; el segundo se presenta más lentamente y se debe a la selección en favor de las cepas mutantes. De esta manera, las fuerzas de evolución pueden producir poblaciones con una frecuencia de sistemas enzimáticos resistentes diferente del tipo ancestral. Situación similar ocurre en animales superiores, incluyendo al hombre, como nos han revelado los estudios sobre sistemas polimórficos en mamíferos.

Entre estos sistemas polimórficos en humanos se presentan: el metabolismo de los salicilatos, efectos del peróxido de hidrógeno, efecto de los barbituratos,

sensibilidad a la primoquina y metabolismo de la isoniácida (INH).

La isoniácida (INH) es un fármaco importante en el tratamiento de la tuberculosis, que es una de las enfermedades de mayor prevalencia en Bolivia con cerca de 386/100.000 habitantes.

Por este hecho, todavía es importante el manejo adecuado de regímenes de tratamiento de fármacos considerados de primera línea, quimioterápicos, que además de ser efectivos sean de manejo relativamente fácil, sean de fácil administración y con una dosis tóxica bastante alejada de la dosis terapéutica y especialmente sean económicos. Todos estos requisitos los reúne la isoniácida o INH, además de su absorción rápida por vía oral y su acción bacteriostática y bactericida.

La INH una vez que pasa a la circulación sanguínea de las personas que la ingieren se inactiva mediante un proceso de acetilación que se realiza principalmente en el hígado. La velocidad de la acetilación difiere de unas personas a otras, clasificándose en inactivadores rápidos e inactivadores lentos de la droga.

Por acción de la enzima acetiltransferasa la isoniácida se acetila transformándose, especialmente en el hígado, en isoniácida acetílica (1-acetil-2-isonicotilhidrazina),

que se excreta en la orina, bacteriológicamente inactiva y menos tóxica. Esta posteriormente se degrada en ácido isonicetínico, ácido isonicetinúrico, isonice-tin glicina, monoacetil hidrazina y diacetil hidrazina (Ellar *et al.*, 1976). Sin embargo, una parte queda inalterada localizándose en los focos tuberculosos.

Esta velocidad de inactivación de la isoniacida en el organismo depende de la cantidad de la enzima acetiltransferasa sintetizada por el hígado (Biehl, 1956).

En vista de la necesidad de establecer las frecuencias de polimorfismo existente en la población boliviana se realizó el presente trabajo en las ciudades de La Paz, a 3.600 m sobre el nivel del mar, y de Santa Cruz, a 470 m sobre el nivel del mar, con el objeto de:

- Determinar la frecuencia de acetiladores rápidos en ambas poblaciones.
- Verificar si la altura juega algún rol en la velocidad de la acetilación de la isoniacida.

#### MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en dos fases:

a) *Primera fase.*— En esta fase se realizó el trabajo en la ciudad de La Paz, a 3.600 m sobre el nivel del mar, y comprendió 90 personas de ambos sexos entre los 11 a 79 años. En estos pacientes, 77 con diagnóstico confirmado de tuberculosis pulmonar (68 de sexo masculino y 9 de sexo femenino) (Tabla I). Estos pacientes estaban bajo tratamiento en el Hospital Luis Uría de la Oliva de la C.N.S.S. y en la Sección Broncopulmonar del Hospital de Clínicas; el esquema de tratamiento era el standard con INH, estreptomycin y ticacetazona; la dosis de INH que recibían estos pacientes era de 8 a 10 mg/kg de peso corporal. Además de estos pacientes, 13 personas eran voluntarios normales (estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud), sin antecedentes de enfermedad reciente (3 eran de sexo masculino y 10 de sexo femenino). Estas personas normales ingirieron por vía oral 8 mg/kg de peso corporal.

b) *Segunda fase.*— Esta fase se realizó en la ciudad de Santa Cruz, a 470 m sobre el nivel del mar, y comprendió el estudio de 50 personas de ambos sexos (36 de sexo masculino y 14 de sexo femenino) entre 13 y 55 años (Tabla I). Estos pacientes estaban bajo tratamiento antituberculoso con INH, estreptomycin y ticacetazona en el Hospital San Juan de Dios y el Servicio de Control de Tuberculosis de la Unidad Sanitaria

TABLA I

Población estudiada

Sujetos	Sexo		Total
	Masculino	Femenino	
Poblaciones de La Paz, 3.600 m de altura	71	19	90
Población de Santa Cruz, 470 m de altura	36	14	50
Total	107	33	140

de la ciudad de Santa Cruz. La dosis de INH que recibían era de 8 a 10 mg/kg de peso corporal.

*Recolección de muestras.*— Se tomaron muestras de sangre (5 ml sin anticoagulante) 6 horas después de la ingestión oral del INH.

En la ciudad de La Paz la toma de muestras fue a las 2.00 PM, en vista de que la toma de la medicación se la realiza a las 8.00 AM.

En la ciudad de Santa Cruz la toma de muestras fue a las 18.00 PM, en vista de que la toma de la medicación se la realiza a las 12.00 PM.

*Método - Determinación Bioquímica.*— El método fue el fluorométrico descrito por "Scott E.M. y Rita C. Wright (1957) modificado.

El fundamento de este método es el siguiente: el filtrado sérico libre de proteínas se trata con salicilaldehído para obtener una hidrazona fluorescente a partir de la isoniacida libre no acetilada, el exceso de salicilaldehído se remueve con bisulfito de sodio. La hidrazona en presencia de agentes reductores da un compuesto soluble en isobutanol que es altamente fluorescente.

Este método permite medir cantidades muy pequeñas hasta de 0,01  $\mu\text{g/ml}$ . Una vez removida la capa de isobutanol se procedió a la lectura de fluorescencia, utilizando un espectrofluómetro Turner. Los filtros empleados para la lectura fueron filtro primario o de excitación de una longitud de onda de 405 mm y un filtro secundario de emisión de una longitud de onda de 465 mm. Sensibilidad de aguja # 4, abertura de ventana 1 X.

#### RESULTADOS

Los resultados verificados en la población estudiada de la ciudad de La Paz, a 3.600 m de altura sobre el nivel del mar, distribuidos de acuerdo a su concentración, están dados en el histograma de la Fig. I.

Las concentraciones no sobrepasaron los 4  $\mu\text{g/ml}$  para los acetiladores lentos y no inferiores a 0,1  $\mu\text{g/ml}$  para los acetiladores rápidos. El antimodo para esta población

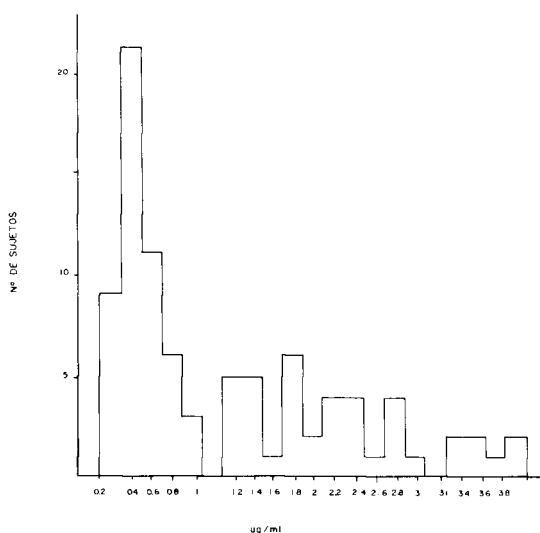


Fig. 1: Histograma de la población de La Paz de acuerdo a la concentración sérica de INH obtenida (1982).

fue de 1,0  $\mu\text{g/ml}$  (Fig. 1). De acuerdo a este antimodo que determina una distribución bimodal, se clasificó a esta población en acetiladores rápidos aquellos cuyas concentraciones séricas de INH eran iguales o menores a 1,0  $\mu\text{g/ml}$  y acetiladores lentos aquellos cuyas concentraciones eran mayores a 1,0  $\mu\text{g/ml}$ .

Por su parte, los resultados encontrados en la población estudiada de la ciudad de Santa Cruz, a 470 m de altura sobre el nivel del mar, distribuidos de acuerdo a su concentración, están dados en el histograma de la Fig. II.

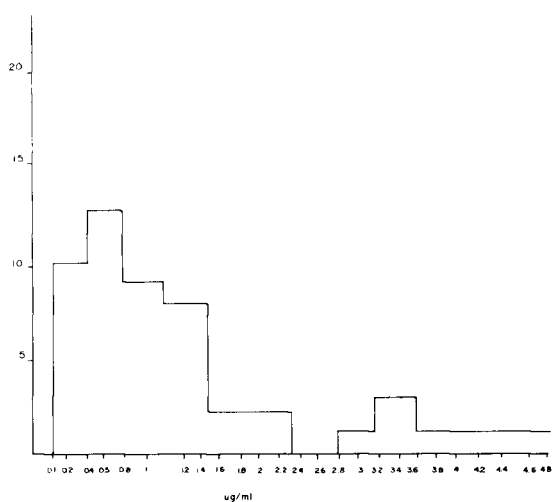


Fig. 2: Histograma de la población de Santa Cruz de acuerdo a la concentración sérica INH obtenida (1982).

Las concentraciones observadas fueron de 5  $\mu\text{g/ml}$ , como máximo para los acetiladores lentos, y 0,079, como mínimo para los acetiladores rápidos. El antimodo en esta población se presentó en un nivel de 2,5  $\mu\text{g/ml}$  (Fig. 2). De acuerdo a este antimodo, que también determina una distribución bimodal, se clasificó a esta población en acetiladores rápidos aquellos cuyas concentraciones eran menores a 2,5  $\mu\text{g/ml}$ .

De acuerdo a la posición de los antimodos, tanto para la ciudad de La Paz como para la ciudad de Santa Cruz, se verificaron las siguientes frecuencias respectivamente:

En la población de la ciudad de La Paz, a 3.600 m sobre el nivel del mar, encontramos que un 55,5% (50) de la población estudiada correspondían a acetiladores rápidos y un 44,4% (40) correspondían a acetiladores lentos, según muestra la Tabla II. Fueron clasificados a partir de un antimodo localizados a 1  $\mu\text{g/ml}$  de concentración de INH en suero, según la Fig. 2.

TABLA II

Distribución de frecuencias de la población de La Paz, según el tipo de acetilación, clasificados a partir de un antimodo a 1  $\mu\text{g/ml}$

Población	Nº de acetiladores		Total
	Rápidos	Lentos	
Masculino	37	34	71
Femenino	13	6	19
Total	50 (55,5%)	40 (44,5%)	90 (100%)

Las concentraciones séricas de INH medidas y expresadas en promedio y desvío estándar, de los acetiladores rápidos y acetiladores lentos, a las 6 horas de administrada la droga por vía oral, están dadas en la Tabla III. Esta tabla nos muestra diferencia significativa (según Test Student) entre las concentraciones de acetiladores rápidos y lentos.

TABLA III

Concentraciones séricas de INH en los dos tipos de acetiladores, por promedio y desvío estándar para la ciudad de La Paz

Tipo de acetilación	Nº de casos	Promedio mg/ml	D.S.
Acetiladores rápidos	(50)	0,435*±	0,215
Acetiladores lentos	(40)**	2,330*±	0,900

\* Vs.

\*\* Diferencia estadísticamente significativa  $P < 0,001$ .

En la población de la ciudad de Santa Cruz, a 470 m sobre el nivel del mar, encontramos que un 88% (44) correspondían a acetiladores rápidos y un 12% (6) a acetiladores lentos, según muestra la Tabla IV. Fueron clasificados a partir de un antimodo de 2,5  $\mu\text{g/ml}$  según la Fig. 3.

TABLA IV

Distribución de frecuencias de la población de Santa Cruz, según el tipo de acetilación, clasificados a partir de un antimodo a 2,5  $\mu\text{g/ml}$

Población	Nº de acetiladores		Total
	Rápidos	Lentos	
Masculino	33	3	36
Femenino	11	3	14
Total	44 (88%)	6 (12%)	50 (100%)

Las concentraciones séricas de INH en la población de Santa Cruz de los acetiladores rápidos y lentos, a las 6 horas de administrada la droga por vía oral de los acetiladores rápidos y lentos y expresadas en promedio de desvío estándar están dadas en la Tabla V. Esta tabla nos muestra diferencia estadísticamente significativa (Test Student) de estas concentraciones entre los dos tipos de acetilares.

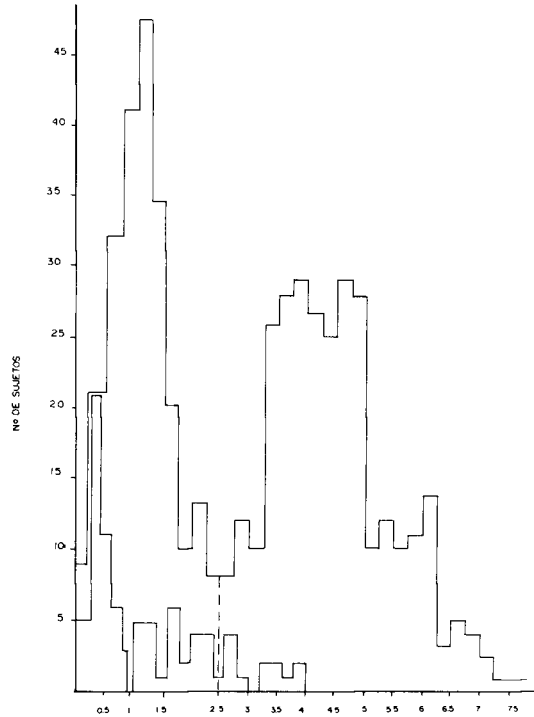


Fig. 3: Histograma de Evans vs. Población de La Paz.

TABLA V

Concentraciones séricas de INH en los dos tipos de acetiladores, por promedio y desvío estándar para la ciudad de Santa Cruz

Tipo de acetilación	Nº de casos	Promedio mg/ml	D.S.
Acetiladores rápidos	(44)	0,837*±	0,52
Acetiladores lentos	(6)	3,270*±	0,64

\* Diferencia estadísticamente significativa  $P < 0,001$ .

En la Tabla VI se muestran los resultados comparativos determinados en la ciudad de La Paz y la ciudad de Santa Cruz, referente a la frecuencia de acetilares rápidos y lentos.

En la Tabla VII se muestran los resultados comparativos para ambas ciudades, referentes a las concentraciones séricas de INH para acetiladores lentos y rápidos.

TABLA VI

Comparación de las frecuencias de acetiladores rápidos y lentos verificadas en la ciudad de La Paz y la ciudad de Santa Cruz

Población	Nº	Frecuencia	
		Acetiladores rápidos	Acetiladores lentos
Población de La Paz	90	55,5% (50)*	44,4% (40)**
Población de Santa Cruz	50	88,0% (44)**	12,0% (6)**

\* Vs.

\*\* Chi cuadrado 15,2;  $p < 0,001$ . Diferencia estadísticamente significativa.

TABLA VII

Comparación de las concentraciones séricas de INH de los acetiladores rápidos y lentos determinadas en las ciudades de La Paz y Santa Cruz

Población	Acetiladores rápidos mg/ml	Acetiladores lentos mg/ml
La Paz	(50) $0,435 \pm 0,215^*$	(40) $2,33 \pm 0,9^{***}$
Santa Cruz	(44) $0,837 \pm 0,52^{**}$	(6) $3,27 \pm 0,64^{****}$

\* Vs.

\*\*  $5,02 P < 0,001$ . Diferencia estadísticamente significativa.

\*\*\* Vs.

\*\*\*\*  $2,455 P < 0,02$ . Diferencia estadísticamente significativa.

En la Tabla VIII se muestran las frecuencias de acetiladores rápidos y lentos de la población de Santa Cruz cuando se los clasifica de acuerdo al antimodo de  $1 \mu\text{g/ml}$  determinado para la ciudad de La Paz. En la ciudad de Santa Cruz, a 470 m

TABLA VIII

Distribución de frecuencias en la población de Santa Cruz, según el tipo de acetilación y clasificados de acuerdo al antimodo determinado para la población de La Paz

Población	Nº de acetiladores		Total
	Rápidos	Lentos	
Masculino	21	15	36
Femenino	7	7	14
Total	28 (56%)	22 (44%)	50 (100%)

sobre el nivel del mar, encontramos que un 56% (28) correspondían a acetiladores lentos, clasificados a partir de un antimodo de  $1 \mu\text{g/ml}$ .

Estos resultados son semejantes a los verificados en la población de Santa Cruz, que presentaron un 88% de acetiladores rápidos y un 12% de acetiladores lentos.

## DISCUSION

Muchos autores mostraron que la velocidad de inactivación de la isoniacida depende de su acetilación (Evans y White, 1964; Peter, Miller y Brown, 1965) y que estos individuos pueden ser clasificados de una manera general como inactivadores rápidos y lentos (Knight, Selin y Harris, 1959; Evans, Manley y McKusick, 1961).

En el primer trabajo que realizamos en la ciudad de La Paz, tomando como población a pacientes con tuberculosis activa diagnosticada y que estaban con tratamiento antituberculoso en base a INH, pudimos observar que las frecuencias de acetiladores rápidos y lentos era de 56% y 44%, respectivamente (Claure y Taboada).

Observamos también una variación en cuanto al antimodo de distribución en las concentraciones séricas de INH, a las 6 horas de ingerida la droga por vía oral, en relación a los trabajos realizados por Evans *et al.* (1960). El desplazamiento hacia concentraciones más bajas en la población de La Paz fue evidente cuando es comparado el histograma de distribución con el del citado autor, diferencia que podía atribuirse a que Evans *et al.* (1960) utilizó una técnica química, la cual podría estar determinando concentraciones séricas de otros compuestos, además de la isoniacida específicamente.

Sin embargo, cabría la posibilidad de que se deba a un efecto directo de la hipoxia de altura, ya que los trabajos de Evans se realizaron a nivel del mar, mientras que el trabajo en la ciudad de La Paz se realizó a 3.600 m de altura sobre el nivel del mar, probablemente a que en la altura es diferente la biodisponibilidad farmacológica del paciente, como se observó en el metabolismo de las otras drogas.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo nos muestran que en la ciudad de La Paz (3.600 m) las concentraciones séricas de INH libre no sobrepasaron los  $4 \mu\text{g/ml}$  para los acetiladores lentos y no inferiores a  $0,1 \mu\text{g/ml}$  para los acetiladores rápidos, con un antimodo localizado a  $1,0 \mu\text{g/ml}$  (Fig. 1); mientras que los resultados de la ciudad de Santa Cruz (470 m) mostraron un máximo de  $5 \mu\text{g/ml}$  para los acetiladores lentos y de  $0,079 \mu\text{g/ml}$  para los acetiladores rápidos con un antimodo localizado a  $2,5 \mu\text{g/ml}$  (Figura 2). Estas figuras, cuando son comparadas entre sí, nos hacen ver antimodos diferentes y concentraciones máximas diferentes para las dos ciudades con un claro desplazamiento hacia concentraciones menores y antimodo menor en la ciudad de La Paz (3.600 m) en relación a la ciudad de Santa Cruz (470 m); este desplazamiento sería efecto de la hipoxia de altura en la ciudad de La Paz, puesto que el antimodo dado de la ciudad de Santa Cruz es el mismo al verificado por Evans (1960) en poblaciones de nivel del mar.

Medina (1977) demostró que el metabolismo del fenobarbital es diferente en ambientes de hipoxia de altura que al nivel del mar, puesto que en la altura se requieren mayores cantidades de fenobarbital para obtener los mismos efectos farmacológicos que al nivel del mar, por un aumento de la enzima citocromo P-450 del hepatocito en la altura en que aumentan los procesos de oxidación de los grupos químicos alifáticos y aromáticos como es el caso de los barbituratos. En el caso de la isoniacida podemos suponer que habría un aumento de las transferasas hepáticas, específicamente la acetiltransferasa. Por otro lado, la isoniacida actúa como inductor del citocromo P-450, como lo demostraron Ryan y col. (1985) y que, por lo tanto, la administración prolongada de esta droga podría alterar el metabolismo de otras drogas y tal vez de la propia isoniacida.

En relación a las frecuencias, tanto de acetiladores rápidos como lentos, verificamos que para la población de La Paz (antimodo de  $1 \mu\text{g/ml}$ ) 55,5% pertenecían a acetiladores rápidos y 44,5% a acetila-

dores lentos, mientras que para la población de Santa Cruz (antimodo de  $2,5 \mu\text{g/ml}$ ) el 88% eran acetiladores rápidos y sólo el 12% eran acetiladores lentos. Esta diferencia estaría dada como consecuencia del efecto de altura, ya que el desplazar el antimodo hacia valores más bajos, existiría una sobreposición de valores entre los antimodos de  $1 \mu\text{g/ml}$  y  $2,5 \mu\text{g/ml}$  en la altura, lo que mostraría frecuencias menores de acetiladores rápidos en relación de los de nivel del mar, siendo que la probable frecuencia de acetiladores rápidos de La Paz sería tan alta como la de Santa Cruz, puesto que se trata de poblaciones relativamente parecidas en vista de que una gran proporción de los pacientes tuberculosos de Santa Cruz eran oriundos de la región andina de nuestro país.

Por otro lado, en la clasificación de acetiladores rápidos están comprendidos tanto homocigotos para el gen acetilador rápido, como los heterocigotos para este gen que es dominante; al existir un desplazamiento por efecto de la hipoxia de altura, de la posición del antimodo de  $25 \mu\text{g/ml}$  a  $1 \mu\text{g/ml}$ , quedaría una proporción importante de los acetiladores rápidos heterocigotos para el gen clasificados como acetiladores lentos, lo que daría como consecuencia una disminución relativa en la frecuencia de acetiladores rápidos y un aumento relativo en la frecuencia de acetiladores lentos.

A este respecto se ha visto que poblaciones étnicamente mongólicas presentan frecuencias de acetiladores rápidos que varían entre 90% a 70,84% para japoneses, coreanos y tailandeses (Sunahara, 1961) y 78,84% a 61,56% para esquimales e indios de Alaska (Scott, 1969), frecuencias muy parecidas a las de Santa Cruz que, como la mayoría de la población boliviana, tiene un componente importante de los grupos lingüísticos y aimara, quechua y poblaciones nativas selváticas (Tabla IX).

Otro hecho que estaría en favor de esta hipótesis sería el que ambas poblaciones cuando son clasificadas de acuerdo al antimodo determinado para la población de La Paz muestran las mismas frecuencias; al igual que cuando son clasificadas de acuerdo al antimodo determinado para la

población de Santa Cruz (Tablas VIII y IX).

TABLA IX

Frecuencia de acetiladores rápidos y lentos en poblaciones del grupo étnico mongólico

Población	Nº de casos	Rápidos %	Lentos %	Autor
Japón	1.808	88,44	11,56	Sumahara, 1961
Ainu	86	90,39	9,61	Sumahara, 1961
Corea	65	89,11	10,89	Sumahara, 1961
Thai	108	70,84	29,16	Sumahara, 1961
Esquimales (Alaska)	157	78,84	21,15	Scott, 1969
Indios (Alaska)	47	61,56	38,44	Scott, 1969

## REFERENCIAS

- BIEHL, P. J. (1956) *Trans., Conf. Chamber, Tuberc. (St. Louis) 15: 279.*
- ELLARD, G.A. *et al.* (1976) Pharmacokinetics of isoniazid. *J. Pharmacokin, Biopharmaceut.*
- EVANS, D.A.P.; MANLEY, K.A. and McKUSICK, V.A. (1960) Genetic Control of isoniazid metabolism in man. *British Medical Journal 485.*
- KNIGHT, R.A.; SELIN, M.J. and HARRIS, H.W. (1985) *Transactions of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 150: 298.*
- MEDINA, A. (1977) Comunicación personal.
- MEYER, H. and MALLY, J. (1912) *M Schr, Chem. 33: 393.*
- PETERS, J.H.; MILLER, K.S. and BROWN, P. (1965) *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 150: 298.*
- RYAN, D.E.; RAMANATLIAN, L.; IIDA, S.; THOMAS, P.E.; HAMIN, M.; SHIVELY, E.; LIEBER, S. & LEVIN, W. (1985) Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid. *J. Biol. Chem. 260: 6385-93.*
- SCOTT, E.M. and WRIGHT, R.C. (1969) Fluorimetric determination of isonicotinic acid hidrazide. *J. Clin. Lab. Med. 70: 335-360.*
- SUNAHARA, S.; URANO, M. and OSAWA, M. (1961) *Genical and geographic studies Science 134: 1530.*
- PROGRAMA DE CONTROL DE TUBERCULOSIS (1980) Min. de Salud Pública 16-18.
- VOGEL, F. (1954) *Ergbn inn. Medd. Kinder heilk n.s. 12: 52.*
- WORK, T.S. & WORK, E. (1948) *The basis of chemotherapy.* Oliver & Boyd Edimburgh.