



Universidad Católica de Santa María

Escuela de Postgrado

Maestría en Bioquímica y Biología Molecular

Evaluación de variantes genéticas en *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* en el metabolismo de la rifampicina e isoniazida en pacientes con tuberculosis del sur del Perú.

Tesis presentada por:

Chavez Arias , Tatiana Shessira

ORCID: 0000-0002-0446-4430

para optar el Grado Académico de Maestro en Bioquímica y Biología Molecular

Asesora:

Dra. Manrique Sam, Maria Cecilia

ORCID. 0000-0001-5229-0810

Arequipa - Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
ESCUELA DE POSTGRADO
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR DE TESIS

Arequipa, 04 de Enero del 2026

Dictamen: 012438-C-EPG-2026

Visto el borrador del expediente 012438, presentado por:

2021000632 - CHAVEZ ARIAS TATIANA SHESSIRA

Titulado:

EVALUACION DE VARIANTES GENÉTICAS EN NAT2, CYP2E1 Y SLCO1B1 EN EL METABOLISMO DE LA RIFAMPICINA E ISONIAZIDA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS DEL SUR DEL PERÚ.

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**41404327 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO
DICTAMINADOR**



**45482246 - ORTIZ ROMERO DERLY DAVID
DICTAMINADOR**



**71219609 - ITA BALTA YUMA ARACELY
DICTAMINADOR**



Evaluación de variantes genéticas en NAT2, CYP2E1 y SLCO1B1 en el metabolismo de la rifampicina e isoniazida en pacientes con tuberculosis del sur del Perú.

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.ipicyt.edu.mx Fuente de Internet	4%
2	fddocuments.ec Fuente de Internet	3%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	pt.scribd.com Fuente de Internet	1%
5	repositorio.uchile.cl Fuente de Internet	1%
6	Submitted to ITESM: Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Trabajo del estudiante	1%
7	www.dge.gob.pe Fuente de Internet	1%
8	www.frontiersin.org Fuente de Internet	1%



DEDICATORIA

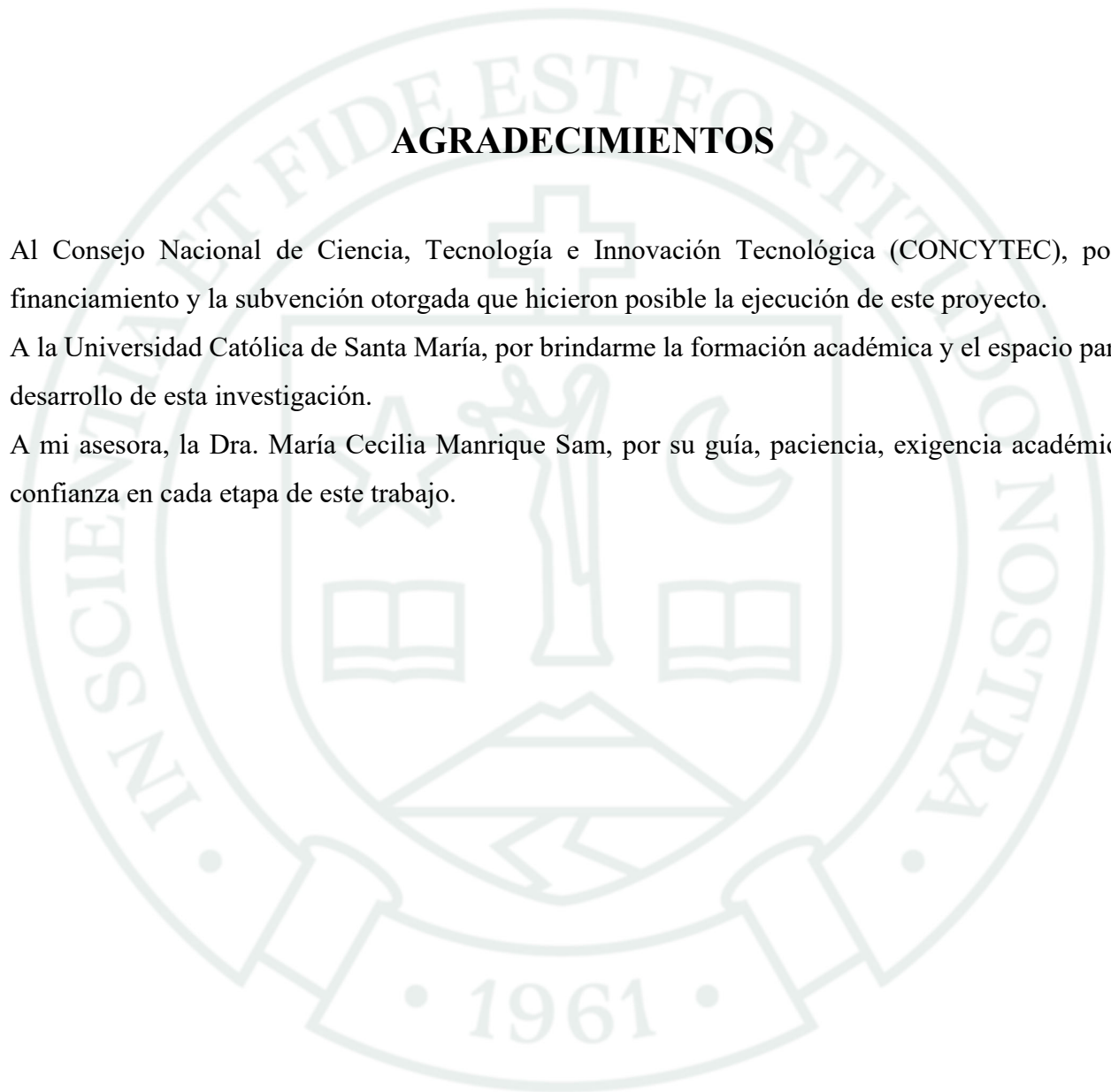
A Dios, fuente de vida, sabiduría y fortaleza, por guiar cada paso de mi camino académico y personal, dándome la paciencia y la fe necesarias para culminar este proyecto. A mi familia, por ser mi pilar y fuente constante de fortaleza, amor y apoyo incondicional. A mis amigos, por acompañarme en los momentos difíciles y celebrar conmigo cada logro.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), por el financiamiento y la subvención otorgada que hicieron posible la ejecución de este proyecto.

A la Universidad Católica de Santa María, por brindarme la formación académica y el espacio para el desarrollo de esta investigación.

A mi asesora, la Dra. María Cecilia Manrique Sam, por su guía, paciencia, exigencia académica y confianza en cada etapa de este trabajo.



RESUMEN

La tuberculosis (TB) constituye un problema prioritario de salud pública en el Perú, con una elevada carga de morbilidad y mortalidad. La variabilidad genética en genes implicados en el metabolismo y transporte de fármacos, como *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1*, puede condicionar la respuesta terapéutica a medicamentos de primera línea como la isoniazida (INH) y la rifampicina (RIF), incrementando el riesgo de reacciones adversas, especialmente hepatotoxicidad.

En este estudio se evaluaron 40 pacientes con diagnóstico confirmado de tuberculosis pulmonar del sur del Perú en tratamiento con INH y RIF. Se realizó la amplificación de regiones específicas de los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* mediante PCR y secuenciamiento de Sanger, seguido de análisis bioinformático para la identificación de polimorfismos.

Los resultados mostraron una elevada frecuencia de acetiladores intermedios (69%) y lentos (11%) en el gen *NAT2*, lo que sugiere una mayor predisposición a hepatotoxicidad por isoniazida. En el gen *CYP2E1*, la mayoría de pacientes presentó genotipo silvestre (62–86%), con baja frecuencia de mutantes (<5%), aunque su combinación con *NAT2* puede potenciar el riesgo tóxico. En el caso de *SLCO1B1*, se identificaron variantes en proporciones variables (2–15% homocigotos mutantes), lo que sugiere un posible impacto en la farmacocinética de rifampicina.

En conclusión, la población estudiada presenta una distribución genética que podría influir en el metabolismo de fármacos antituberculosos, con implicancias clínicas en la seguridad y eficacia del tratamiento. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de considerar la farmacogenómica en el manejo de pacientes con TB en el Perú.

Palabras clave: Tuberculosis, farmacogenómica, polimorfismos.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a priority public health problem in Peru, with a high burden of morbidity and mortality. Genetic variability in genes involved in drug metabolism and transport, such as *NAT2*, *CYP2E1*, and *SLCO1B1*, can influence therapeutic response to first-line drugs such as isoniazid (INH) and rifampicin (RIF), increasing the risk of adverse reactions, especially hepatotoxicity.

This study evaluated 40 patients with a confirmed diagnosis of pulmonary tuberculosis from southern Peru receiving treatment with INH and RIF. Specific regions of the *NAT2*, *CYP2E1*, and *SLCO1B1* genes were amplified by PCR and Sanger sequencing, followed by bioinformatics analysis to identify polymorphisms.

The results showed a high frequency of intermediate (69%) and slow (11%) acetylators in the *NAT2* gene, suggesting a greater predisposition to isoniazid-induced hepatotoxicity. In the *CYP2E1* gene, most patients had the wild-type genotype (62–86%), with a low frequency of mutants (<5%), although their combination with *NAT2* may enhance the toxic risk. In the case of *SLCO1B1*, variants were identified in variable proportions (2–15% homozygous mutants), suggesting a possible impact on rifampicin pharmacokinetics.

In conclusion, the study population presents a genetic distribution that could influence the metabolism of antituberculosis drugs, with clinical implications for treatment safety and efficacy. These findings reinforce the need to consider pharmacogenomics in the management of TB patients in Peru.

Keywords: Tuberculosis, pharmacogenomics, polymorphisms.

INDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN.....1

HIPÓTESIS.....2

OBJETIVOS.....3

CAPÍTULO I:4

MARCO TEÓRICO.....4

1.1.Tuberculosis.....4

1.2.Tuberculosis en el Perú.....4

1.3.Tratamiento de tuberculosis.....5

1.4.Fármacos contra la tuberculosis.....6

1.5.Genética de la Metabolización de Fármacos:.....8

1.6.Polimorfismos de genes.....12

CAPÍTULO II:28

METODOLOGÍA.....28

2.1. Consideraciones éticas.....28

2.2 Población y muestra.....28

2.3 Obtención y procesamiento de muestras.....29

2.3.1. Aislamiento de ADN genómico29

2.3.2. Análisis de la calidad e integridad del ADN.....30

2.3.3. Amplificación por PCR punto final.....31

2.3.4 Purificación de producto de PCR.....32

2.3.5. Secuenciación e identificación de polimorfismos genéticos.....33

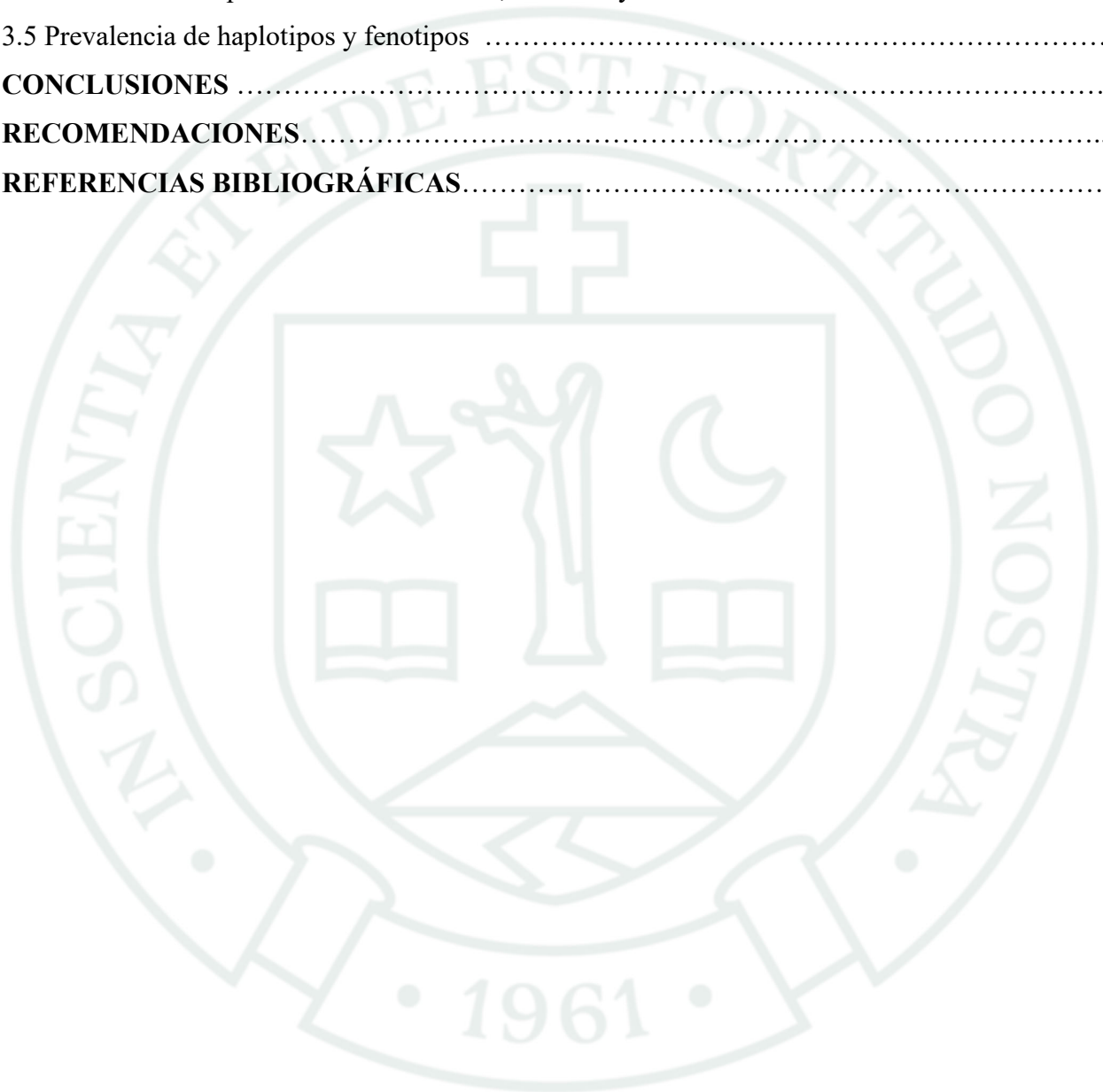
2.3.6. Análisis bioinformático.....33

2.4. Haplotipos de *NAT2* y fenotipo acetilador.....36

2.5 Análisis estadístico de los métodos diagnósticos y la distribución etaria en tuberculosis.....36

CAPÍTULO III:.....37

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
3.1 Validación de oligonucleótidos.....	39
3.2 Amplificación de genes <i>NAT2</i> , <i>CYP2E1</i> y <i>SLCO1B1</i>	40
3.3 Secuenciamiento y análisis de variantes.....	42
3.4 Distribución de polimorfismos en <i>NAT2</i> , <i>CYP2E1</i> y <i>SLCO1B1</i>	44
3.5 Prevalencia de haplotipos y fenotipos	44
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58



INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Frecuencia de los fenotipos acetiladores según genotipos de *NAT2*.....54

Tabla N° 2. Asociación entre fenotipo *NAT2* y tipo de tuberculosis.....55



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del método diagnóstico según el tipo de tuberculosis.....	39
Figura 2. Distribución de la edad según el método diagnóstico de la TB pulmonar.....	39
Figura 3. Electroforesis de los productos de PCR del gen <i>NAT2</i>	42
Figura 4. Electroforesis de los productos de PCR de gen <i>CYP2E1</i>	42
Figura 5. Electroforesis de los productos de PCR del gen <i>SLCO1B1</i>	43
Figura 6. Alineamiento de muestras del gen <i>NAT2</i>	44
Figura 7. Frecuencia de variantes genómicas en el gen <i>NAT2</i>	45
Figura 8. Frecuencia de variantes genómicas en el gen <i>CYP2E1</i>	46
Figura 9: Frecuencia de variantes genómicas en el gen <i>SLCO1B1</i>	47
Figura 10. Distribución de variantes del gen <i>NAT2</i>	48
Figura 11. Distribución de variantes del gen <i>CYP2E1</i>	49
Figura 12. Distribución de variantes del gen <i>SLCO1B1</i>	51
Figura 13. Distribución de fenotipos acetiladores	55

INTRODUCCION

La tuberculosis (TB) representa un desafío de salud a nivel global, siendo causada por la infección con la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Aunque esta enfermedad puede afectar diversos órganos del cuerpo, los pulmones son los más comúnmente comprometidos. La terapia farmacológica actual para la tuberculosis es efectiva, pero conlleva un riesgo significativo de reacciones adversas graves a los medicamentos, especialmente la lesión hepática inducida por fármacos antituberculosos (AT-DILI). A lo largo del tiempo, se han identificado y desarrollado una docena de fármacos antituberculosos, que se pueden clasificar en cinco grupos según su aplicación clínica. En este trabajo se desea determinar el genotipo metabolizador de las enzimas responsables del metabolismo de medicamentos para el tratamiento de tuberculosis pulmonar. Dado que el esquema de tratamiento de primera línea de la tuberculosis en el Perú incluye fármacos como isoniazida (INH) y rifampicina (RIF) ambas metabolizadas en el hígado durante 6 a 9 meses. Se eligieron pacientes diagnosticados y con tratamientos de Rifampicina e Isoniacida para evaluar si este metabolismo está relacionado con la variación genética de *NAT2* y *CYP2E1* (asociados a metabolismo de isoniazida INH) y la variación genética de *SLCO1B1* (asociados a metabolismo de rifampicina RIF), ello puede determinar que un individuo sea metabolizador rápido, intermedio o lento. Las mutaciones presentes en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* fueron determinadas mediante la tecnología Sanger con el propósito de identificar la prevalencia de los tipos de polimorfismos metabolizadores presentes en nuestra población lo que contribuirá a la toma de decisiones del manejo terapéutico de los pacientes con tuberculosis pulmonar en nuestra región.

HIPOTESIS

Dado que la presencia de polimorfismos puede modificar la acción de proteínas asociadas al metabolismo de los medicamentos, es posible una alta incidencia entre las mutaciones de estos genes y la hepatotoxicidad alta con uso de rifampicina e isoniacida en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar en la región sur del Perú.



OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar las variantes genéticas en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* en el metabolismo de rifampicina e isoniazida en pacientes con tuberculosis del sur del Perú.

Objetivos específicos

- Evaluar los polimorfismos de los genes *NAT2*, *CYP2E1* Y *SLCO1B1* mediante secuenciamiento de Sanger, en los pacientes con tuberculosis del sur del Perú.
- Determinar la frecuencia de estas variantes genéticas en la población de estudio y su distribución según diferentes características.
- Analizar la presencia de los polimorfismos y su relación con el perfil metabolizador.

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1.1.Tuberculosis

La tuberculosis (TB) continúa siendo una de las enfermedades infecciosas con mayor impacto en la mortalidad a nivel mundial. A pesar de ser una patología prevenible, tratable y curable, esta antigua enfermedad sigue causando aproximadamente 4,300 muertes de personas cada día, superando incluso las muertes causadas por el VIH y la malaria. Si bien se han implementado numerosas estrategias e intervenciones científicas basadas en evidencia para su control, persisten importantes limitaciones en la inversión sostenida, lo que dificulta el diagnóstico oportuno y el adecuado seguimiento de las personas afectadas. (1)

Durante la pandemia por el SARS-CoV-2 se observó en todos los países una disminución en el número de diagnósticos de tuberculosis, lo que frenó los avances logrados durante años en la detección de casos y obligó a intensificar las acciones para su control. Aunque la pandemia afectó gravemente estos esfuerzos, también evidenció el trabajo integrado entre la voluntad política, el personal de salud y el financiamiento. Además, reveló la desigualdad en el acceso a nuevas tecnologías, las cuales podrían constituir una barrera para la implementación y el acceso equitativo a futuras vacunas contra la tuberculosis (2).

En 2022, en las Américas, se proyectaron 325.000 nuevos casos de tuberculosis, de los cuales se informaron 239.987 (74%), lo que representó un aumento del 4% en comparación con 2021. Se estimaron 35.000 muertes en la región, con 11.000 relacionadas con la coinfección por TB/VIH. Un punto crucial es la creciente tasa de casos de tuberculosis multidrogorresistente, lo que complica aún más la lucha contra la enfermedad. A pesar de estos desafíos, es esencial destacar que la tuberculosis es una enfermedad tratable y prevenible. (3)

1.2.Tuberculosis en el Perú

Cada año en el Perú se notifican alrededor de 27 mil casos nuevos de enfermedad activa y 17 mil

casos nuevos de tuberculosis pulmonar positivo en baciloscopias, el Perú es uno de los países con mayor cantidad de casos de tuberculosis en las Américas. Por otro lado, la emergencia de cepas resistentes ha complicado las actividades de prevención y control, en los últimos 2 años en el país se han reportado más de 1500 pacientes con tuberculosis multidrogo resistente (MDR) por año y alrededor de 100 casos de tuberculosis extensamente resistente (XDR) por año. (4).

Entre 2018 y 2022, se reportaron en el Perú un total de 151,329 casos de tuberculosis en todas sus formas, con un rango mínimo de 27,487 en 2020 y un rango máximo de 33,939 en 2018. La captación de casos de TB en 2020 y 2021 alcanzó sus niveles más bajos en este periodo, lo cual se atribuye al limitado acceso a los servicios de salud para el diagnóstico oportuno debido a la pandemia por el SARS-CoV-2. Sin embargo, en 2022 se observó un incremento en la notificación de casos del 8.54% con respecto al año anterior, lo que se tradujo en un aumento de la tasa de morbilidad en un 6.72 (ver Figura 1)(3,5).

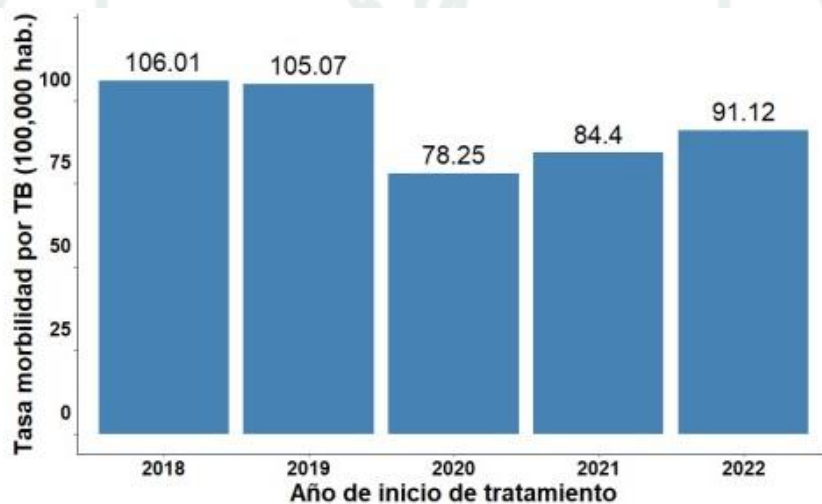


Figura 1: Tasa de morbilidad por tuberculosis . Perú, 2018-2022 (CDC- MINSA)

1.3. Tratamiento de tuberculosis

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda el uso de una combinación de cuatro medicamentos como tratamiento de primera línea para las personas con tuberculosis sensible a los medicamentos: isoniazida (INH), rifampicina (RMP), etambutol (EMB) y pirazinamida (PZA). La combinación de estos medicamentos para tratar a pacientes con tuberculosis puede

experimentar reacciones adversas, una de las más graves la hepatotoxicidad por fármaco antituberculosos (ATDH)(6). Las tasas de incidencia de ATDH reportadas entre pacientes bajo tratamiento multimedicamentoso estándar varían del 2% al 28%, dependiendo del régimen administrado, la definición de ATDH y las características del paciente, como la edad, la raza y el sexo. La hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos (ATDH) puede llegar a ser mortal, con una letalidad estimada entre 6 % y 12 % cuando los medicamentos no se interrumpen de manera oportuna. Asimismo, la ATDH y otros eventos adversos asociados al tratamiento antituberculoso favorecen el abandono o la baja adherencia terapéutica, lo que a su vez incrementa el riesgo de fracaso del tratamiento, recaídas y desarrollo de resistencia farmacológica. (7,8)

Los dos medicamentos esenciales del esquema antibiótico de primera línea para la tuberculosis, la isoniazida (INH) y la rifampicina (RIF), son procesados en el organismo mediante la acción de diversas enzimas metabólicas. La *NAT2* y la *CYP2E1* metabolizan INH, mientras que la AADAC metaboliza RIF. El hígado es el principal órgano encargado del metabolismo de fármacos y la desintoxicación, por lo que es vulnerable al desarrollo de daños. Entre los medicamentos antituberculosos de primera línea, la INH es la principal responsable del desarrollo de reacciones adversas a los fármacos (RAFAs) mediante la producción de metabolitos intermedios. A nivel hepático, la *NAT2* acetila la INH para formar acetilhidrazina, luego la *CYP2E1* oxida este compuesto para formar intermediarios tóxicos. Las enzimas *NAT2* y GST participan en la detoxificación de estos compuestos tóxicos producidos mediante mecanismos de acetilación y conjugación, respectivamente (9).

1.4. Fármacos contra la tuberculosis

Las tres cualidades esenciales de los fármacos antituberculosos son su efectividad bactericida, su capacidad para esterilizar y su potencial para prevenir la resistencia. Estas propiedades varían entre los diferentes medicamentos y son la base para su inclusión en los protocolos de tratamiento. Todos los medicamentos tienen el potencial de provocar efectos secundarios, y es crucial que el personal de salud pueda identificar y manejar estas reacciones de manera adecuada.(10)

Los fármacos de primera línea son esenciales en cualquier régimen terapéutico para tratar la tuberculosis por *M. tuberculosis*, a menos que se detecte resistencia. Isoniazida y rifampicina son

los agentes bactericidas más eficaces, efectivos contra todas las poblaciones de bacilos tuberculosos.(11) Pirazinamida y estreptomycin también poseen propiedades bactericidas, aunque su efectividad varía según la población de bacilos. Por otro lado, el etambutol, que es bacteriostático, se utiliza en combinación con fármacos bactericidas más fuertes para prevenir el desarrollo de resistencia bacteriana. (12,13)

Los fármacos de segunda línea se utilizan como alternativa cuando se detecta o sospecha resistencia a los medicamentos de primera línea. Estos medicamentos suelen ser menos eficaces que los de primera línea y pueden causar más efectos secundarios. (14).

De manera general, los regímenes de tratamiento están conformados por dos fases, que se diferencian tanto en el tiempo de duración como en el tipo y cantidad de medicamentos utilizados. En la primera etapa, ocurre una rápida destrucción de los bacilos tuberculosos, lo que permite que algunos pacientes negativicen aproximadamente hacia la tercera semana de terapia y experimenten una mejoría significativa. En la segunda etapa, los fármacos eliminan los bacilos persistentes, contribuyendo a la esterilización del foco infeccioso y a la prevención de recaídas (15)

Tratamientos de tuberculosis según pacientes:

El tratamiento de la tuberculosis varía según el tipo de paciente y su antecedente terapéutico, tanto en duración como en número y tipo de medicamentos empleados:

- Casos nuevos: el esquema terapéutico tiene una duración total de seis meses. Comprende una fase inicial de dos meses con cuatro fármacos, seguida de una fase de continuación de cuatro meses con dos medicamentos.
- Pacientes previamente tratados: el tratamiento se extiende por ocho meses. La fase inicial incluye cinco medicamentos durante dos meses, seguida de un mes adicional con cuatro fármacos. Posteriormente, la fase de continuación se prolonga por cinco meses con tres medicamentos.
- Pacientes con sospecha de TB MDR sin resultados de prueba de sensibilidad (retratamiento estandarizado): el esquema tiene una duración de dieciocho meses. La primera fase se desarrolla durante seis meses con siete medicamentos, mientras que la segunda fase continúa con seis fármacos, excluyendo el medicamento inyectable. En ambas fases, los fármacos orales se administran de forma fraccionada cada doce horas.

- Pacientes con sospecha de TB MDR sin prueba de sensibilidad (retratamiento empírico): el régimen terapéutico se establece de manera individual, según la recomendación del médico consultor en coordinación con el CERI y/o CERN. Este esquema alternativo se aplica cuando existe sospecha de resistencia basada en el antecedente de contacto o en el uso previo de medicamentos antituberculosos.
- Pacientes con TB MDR confirmada (retratamiento individualizado): el tratamiento se diseña en función de los resultados de la prueba de sensibilidad, con una duración mínima de veinticuatro meses o más. Se emplean al menos cinco medicamentos efectivos, y el médico tratante define la duración de la fase inicial, reservando el uso del fármaco inyectable para la fase posterior. (16)

Medicamentos de primera línea

La rifampicina es un medicamento ampliamente empleado en el tratamiento de la tuberculosis y se considera un fármaco de primera línea. Su mecanismo de acción consiste en la unión a la subunidad beta de la ARN-polimerasa dependiente de ADN, lo que impide que esta enzima interactúe con el ADN y, en consecuencia, inhibe la transcripción del ARN. Además, la rifampicina no interactúa con las polimerasas de las células eucariotas, por lo que no altera la síntesis de ARN en el ser humano.(17) La rifampicina es bacteriostática o bactericida según las concentraciones que alcance en su lugar de acción y de la susceptibilidad del microorganismo. La rifampicina es eficaz frente a microorganismos en fase de división rápida en las lesiones cavitarias y también frente a los que se dividen lentamente, como los que se encuentran en las lesiones caseosas y en los macrófagos.(18)

En general, los siguientes microorganismos son sensibles a la rifampicina: *Mycobacterium tuberculosis*; *M. bovis*; *M. kansasii*; *M. marinum*; *M. leprae*; y algunas cepas de *M. avium*, *M. intracellulare*, y *M. fortuitum*. La rifampina es extremadamente activa frente a *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, y *Legionella pneumophila*. También posee una cierta efectividad, aunque a concentraciones muy elevadas, frente a *Chlamydia trachomatis*, *poxvirus*, y adenovirus. (5)

La rifampicina induce la actividad enzimática microsomal aumentando el metabolismo y la excreción urinaria de los ácidos biliares y ha sido utilizada para aliviar el prurito secundario a la

colestasis asociada a la cirrosis biliar.(19)

1.5. Genética de la Metabolización de Fármacos:

- **La rifampicina:** Para comprender plenamente la rifampicina (RFP) como un excelente fármaco antituberculoso y prevenir sus reacciones adversas, se investigó el estado actual del metabolismo humano de la RFP con especial énfasis en sus marcados cambios en la primera semana de administraciones diarias. Se realizaron observaciones farmacocinéticas del metabolismo de la RFP mediante múltiples determinaciones de la RFP y sus metabolitos (desacetil RFP, 3-formilrifamicina SV y metabolito soluble en agua) en la orina después de una dosis única de administración oral de 450 mg de RFP en una persona sana. La RFP y sus metabolitos urinarios fueron extraídos selectivamente en solventes orgánicos respectivamente, y determinados fotométricamente. Se confirmó una buena reproducibilidad del metabolismo de la RFP mediante exámenes repetidos en el mismo sujeto. (20). El pico de excreción de RFP libre siempre se encontraba en la segunda micción de micciones por hora, y su excreción disminuía en una curva hiperbólica. Aunque la excreción urinaria de desacetil RFP no fue tan alta como se esperaba, su pico se observó en conjunción con la ingesta de alimentos, y dicho pico alto después de tomar alimentos solo se observó en la etapa temprana, es decir, en la primera o segunda administración de RFP, y posteriormente, no se observó ningún pico durante su administración continua. Esto puede explicarse por la circulación enterohepática de desacetil RFP que se desarrolló en la etapa bastante temprana de su tratamiento.(21) La 3-formilrifamicina SV siempre se detectaba incluso en orina fresca, y su cantidad era inferior a 6 mg en la orina de 24 horas en la mayoría de los casos examinados.(22) Se observó una aparente aceleración del metabolismo de la RFP en la primera semana de administraciones diarias del fármaco(23). Esta aceleración se consideró causada por la inducción enzimática para el metabolismo del fármaco; sin embargo, el resultado inesperado por el metabolismo acelerado de la RFP se caracterizó por la desaparición mucho más rápida de la desacetil RFP que de la RFP libre(24). Un metabolito de RFP soluble en agua se separó de la orina de RFP a través de la extracción secundaria con alcohol bencílico que sucede a la extracción con alcohol isoamílico de toda la RFP libre y desacetil RFP. Su excreción urinaria también aumentó claramente después de la ingesta de alimentos como en el caso de la desacetil RFP, pero el aumento apareció después del aumento de la desacetil RFP (25). En el presente estudio, se confirmó que este metabolito soluble en agua era un glucurónido y se demostró que este metabolito se producía

notablemente en el metabolismo de la RFP después de la carga de fenobarbital. Además, la oxidasa salival activada en condiciones ácidas del estómago oxidaba la RFP en RFP quinona, que es menos absorbible en el intestino (26). Las investigaciones farmacocinéticas del metabolismo de la RFP en el hombre mediante la determinación múltiple de sus excreciones urinarias revelaron que existían mecanismos metabólicos complicados y variados, como la oxidación enzimática de la RFP en el estómago antes de su absorción intestinal, la excreción biliar como desacetil RFP y/o RFP glucurónido, y una aceleración notable del metabolismo de la RFP caracterizada como tratamiento activo de la desacetil RFP, mediante la inducción enzimática introducida en la primera semana de administración diaria de RFP (27).

Finalmente podemos resumir que se metaboliza en el hígado a desacetil-rifampina, un metabolito que también posee actividad antibacteriana. La rifampicina experimenta una circulación enterohepática con una reabsorción significativa. Su semi-vida plasmática es de 3-5 horas pero aumenta cuando se utiliza repetidamente debido a un aumento de su excreción biliar. En su mayoría, la rifampicina y su metabolito desacetilado son eliminados en las heces (60%) siendo un 30% aproximadamente eliminado en la orina.

- **La isoniazida** : se utiliza en el tratamiento de la tuberculosis y debido a su eficacia y bajo coste se la considera como un fármaco de primera elección. La isoniazida es más eficaz y menos tóxica que otros fármacos antituberculosos incluyendo el ácido p-aminosalícilico, la capreomicina, cicloserina, etionamida y kanamicina. Su mecanismo de acción inhibe una serie de enzimas que las micobacterias necesitan para sintetizar el ácido micólico impidiendo la formación de la pared bacteriana. (28)

La isoniazida es bactericida o bacteriostática dependiendo de la concentración del fármaco en el lugar infectado y de la susceptibilidad del microorganismo. La isoniazida es bactericida frente a microorganismos en fase de división rápida como los que se encuentran extracelularmente en las lesiones cavitarias y bacteriostático frente a los que se encuentran en fase de división lenta como los que se encuentran en los macrófagos. Frente a estos, la rifampicina o la pirazinamida son más efectivos.(29)

Los siguientes microorganismos son generalmente sensibles a la isoniazida: M. tuberculosis, M. bovis, y algunas cepas de M. kansasii. La isoniazida se distribuye muy bien en todos los órganos y tejidos, y penetra a través de la meninges inflamadas alcanzando niveles terapéuticos en el líquido

cefalorraquídeo. También cruza la placenta y se distribuye en la leche materna. En el hígado, la isoniazida es metabolizada por acetilación, ocasionando metabolitos inactivos. La semi-vida de eliminación es de 1-4 horas, dependiendo de que el paciente sea un acetilador rápido o lento. (30,31)

Durante más de cincuenta años, la hidrazida de piridina-4-carboxilo, conocida como hidrazida isonicotínica o isoniácida (INH), ha constituido uno de los pilares fundamentales en el tratamiento de la tuberculosis. Su biotransformación ha sido ampliamente estudiada, con especial énfasis en las propiedades farmacodinámicas y toxicológicas de algunos de sus metabolitos. Desde su introducción en 1952, se han descrito numerosos productos metabólicos de la INH, entre ellos la hidrazina (HZ), el ácido isonicotínico (INA), amoníaco, el derivado acetilado N1-acetil-N2-isonicotinilhidrazida (AcINH), hidrazonas formadas con los ácidos pirúvico y cetoglutárico (INH-PA e INH-KA, respectivamente), monoacetilhidrazina (AcHZ), diacetilhidrazina (DiAcHZ) y especies reactivas derivadas de procesos oxidativos. Estos metabolitos se generan a partir de reacciones de hidrólisis (INA, HZ), oxidación mediada por el citocromo P450 (CYP), que da lugar a HZ, NH₃ y radicales oxidantes, así como por la acción de la N-acetiltransferasa (*NAT*), responsable de la formación de AcINH, AcHZ y DiAcHZ. Aún persiste controversia respecto al papel de la isonicotinamida (INAAM) como metabolito de la INH en mamíferos. Desde el punto de vista cuantitativo, AcINH representa uno de los principales metabolitos y se produce mediante la acción de la *NAT*. Este compuesto presenta una actividad antituberculosa prácticamente nula y una toxicidad considerablemente menor que la del fármaco original. Tanto su formación como su eliminación están determinadas genéticamente, mostrando un patrón de acetilación trimodal que distingue individuos con metabolismo rápido, intermedio o lento.(32) La acetilación lenta, que se transmite como un rasgo autosómico recesivo, aumenta el riesgo de neurotoxicidad periférica y hepatotoxicidad en los usuarios de INH. Hasta el momento, no hay pruebas farmacogenéticas concluyentes de que la formación de HZ y radicales oxidantes estén relacionados con polimorfismos de CYP. (33).Este artículo examina INH, HZ y sus metabolitos mono- y diacetilados, y el amoníaco (que estudios in vitro e in vivo indican como otro derivado de HZ) en términos de su potencial para causar efectos neurotóxicos y hepatotóxicos (las dos principales formas de toxicidad de INH observadas en animales y humanos). La hepatotoxicidad de INH parece estar relacionada principalmente con HZ, AcHZ y otros metabolitos de HZ capaces de generar radicales libres. Se discutirán los aspectos patológicos de la acetilación lenta de INH en

relación con los efectos hepato y neurotóxicos de los medicamentos. El mecanismo subyacente a la neurotoxicidad de INH aún no se ha definido completamente. Los metabolitos involucrados en este fenómeno aún son oscuros, aunque HZ (y posiblemente también el amoníaco que libera) claramente desempeñan un papel importante. Hay algunas pruebas de la participación de γ -glutamil HZ y de un análogo químico de una base de Schiff formada por INH y piridoxal-fosfato. Hallazgos recientes también han revelado interacciones importantes entre INH y las diversas isoformas de CYP, y estas pueden desempeñar un papel en interacciones clínicamente relevantes entre INH y varios otros medicamentos. Todos estos aspectos de INH serán cubiertos en la revisión.

1.6. Polimorfismos de genes

Entre los factores genéticos asociados al riesgo de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos (ATDH) se encuentran los polimorfismos del gen N-acetiltransferasa 2 (*NAT2*), responsable de codificar una enzima clave en el metabolismo de estos medicamentos. Las variaciones genéticas en *NAT2* pueden modificar la actividad enzimática, alterando los procesos de biotransformación de los fármacos antituberculosos y de sus metabolitos a nivel hepático, lo que incrementa la probabilidad de desarrollar reacciones adversas en el hígado. Asimismo, la generación de metabolitos tóxicos puede estar implicada en otras manifestaciones de toxicidad, como la neuropatía periférica y la erupción maculopapular; sin embargo, la mayor parte de la evidencia farmacogenética disponible sobre los tratamientos antituberculosos se ha centrado principalmente en la hepatotoxicidad.. (7,8)

Estudiar la diversidad genética poblacional es crucial para identificar los polimorfismos específicos presentes en cada grupo étnico. La farmacogenética es una ciencia que se enfoca en establecer la asociación entre la presencia de polimorfismos en una región génica particular dentro de la vía metabólica y la respuesta del individuo a un fármaco específico, con el objetivo de mejorar la efectividad del tratamiento y reducir las reacciones adversas (1). Esta se basa en la necesidad de no extrapolar el genotipo predominante observado en otras poblaciones al momento de prescribir dosis adecuadas de un fármaco particular. El análisis genético de la mezcla ancestral en la población mestiza peruana, derivado del estudio de diversas comunidades nativas americanas, revela un perfil poblacional único que no puede basarse en los datos

farmacogenómicos existentes. Por ende, se destaca la importancia de investigar los polimorfismos en las regiones génicas de *NAT2*, *CYP2E1* y *GST* en las poblaciones peruanas. (9)

1) *NAT2*

NAT2 se encuentra en el hígado y cataliza la acetilación de la isoniacida (INH), la hidralazina, la sulfadoxina, la procainamida, la dapsona y otros fármacos clínicamente importantes. También cataliza la acetilación de carcinógenos aromáticos e heterocíclicos. También se ha demostrado que está involucrada en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, diabetes, cataratas y parkinsonismo (34).

Los fenotipos de acetilación lenta y rápida de la isoniacida (INH) fueron identificados hace aproximadamente seis décadas en pacientes con tuberculosis. Posteriormente, se demostró que estas diferencias están asociadas a la variabilidad genética de la enzima N-acetiltransferasa 2 (*NAT2*), la cual participa en la biotransformación de la INH hacia su metabolito acetilado. Este metabolito sufre hidrólisis para formar hidrazina acetilada, que posteriormente puede ser convertida por la acción adicional de la *NAT2* en hidrazina diacetilada, una forma no tóxica. En individuos con baja actividad de *NAT2*, la hidrazina acetilada es preferentemente metabolizada por la vía oxidativa dependiente del *CYP2E1*, lo que favorece la formación de intermediarios reactivos y se asocia con un mayor riesgo de hepatotoxicidad.

NAT2 es polimórfica y se han asignado alrededor de 108 alelos de *NAT2* por el Comité de Nomenclatura de Genes de Transferasa de N-acetil Arilamina. Un estudio indio informó la presencia de 35 alelos diferentes en poblaciones indias. *NAT2*4* ha sido históricamente designado como "tipo salvaje" ya que es el alelo más común en algunos pero no en todos los grupos étnicos. Según los genotipos de *NAT2*, puede haber tres fenotipos enzimáticos, a saber, acetiladores rápidos (rápidos) (que tienen dos alelos rápidos), acetiladores intermedios (un alelo rápido y uno lento) y acetiladores lentos (dos alelos lentos).

El estado de acetilador lento de un paciente es clínicamente más importante que los otros dos fenotipos. Las personas con fenotipo acetilador lento son más susceptibles a interacciones medicamentosas con INH y otras toxicidades inducidas por INH. La significancia clínica del

estado de acetilador lento de *NAT2* ha sido investigada en todo el mundo. En un estudio polaco, la concentración plasmática promedio de INH fue de 2 a 7 veces mayor entre los acetiladores lentos en comparación con otros tipos. Un estudio realizado en Maharashtra, India, informó una mayor concentración plasmática de INH en acetiladores lentos que se correlacionó con los genotipos variantes de *NAT2* en pacientes con tuberculosis. Un estudio japonés también informó una buena concordancia entre el genotipo de *NAT2* y el metabolismo de INH en pacientes con tuberculosis. Sin embargo, en pacientes con SIDA hubo discordancia entre el genotipo de acetilador y el fenotipo de *NAT2* medido por cafeína como fármaco de prueba.

Los pacientes con meningitis tuberculosa son tratados con INH y fenitoína. Se informa que INH disminuye la eliminación de muchos medicamentos, incluida la fenitoína, carbamazepina, diazepam, vincristina, primidona y acetaminofén. El riesgo de toxicidad por fenitoína es mayor si se administra junto con INH, lo que es respaldado por varios informes. Sin embargo, Kay et al. mostraron que la administración concomitante de INH y rifampicina aumentó la eliminación de fenitoína. Esto se ha atribuido a la inducción enzimática inducida por rifampicina, que no es contrarrestada adecuadamente por INH.

La fenitoína tiene una propiedad farmacocinética saturable. Se metaboliza principalmente por *CYP2C9* (90%) y en menor medida por *CYP2C19*. La tasa de eliminación de fenitoína varía en función de su concentración. Su eliminación sigue una cinética de primer orden hasta una concentración plasmática de 10 µg/mL y más allá de este nivel sigue una cinética de saturación. Como resultado, cualquier cambio pequeño en la dosis conduce a una concentración plasmática desproporcionadamente mayor de fenitoína. La toxicidad por fenitoína inducida por INH se ha informado ampliamente. Un estudio *in vitro* realizado en microsomas hepáticos *humanos* encontró que INH era un inhibidor potente y dependiente de la concentración de las enzimas *CYP2C19* y *CYP3A*, pero no producía una inhibición significativa de la enzima *CYP2C9*. (2) La concentración terapéutica de INH causa una inhibición mínima de la enzima *CYP2C9*, que es la enzima principal que metaboliza la fenitoína. Parece que la toxicidad por fenitoína inducida por INH no se debe a la participación de la enzima *CYP2C9*, sino a la inhibición de las enzimas *CYP2C19* que es la vía alternativa cuando el nivel plasmático de fenitoína excede los 10 µg/mL. Esto es respaldado por un estudio publicado en este número por Adole et al. demostrando el polimorfismo del gen *NAT2* como un factor predisponente para la toxicidad de la fenitoína en pacientes que reciben INH. En

este estudio, el nivel plasmático de fenitoína fue superior a 15 µg/mL en todos los pacientes con toxicidad por fenitoína, lo que sugiere una cinética de saturación de fenitoína en ellos. Esto podría ser debido al efecto indirecto de los genes mutantes de NAT2 aumentando el nivel de INH que a su vez causó la inhibición del metabolismo de la fenitoína. En este estudio piloto, no se midió el nivel de INH en plasma. Por lo tanto, no hubo evidencia directa de que los niveles de INH estuvieran elevados por genes polimórficos de *NAT2*. Además, no se estimó la frecuencia de alelos variantes de CYP2C9 y C19. Los alelos variantes de CYP2C9 y C19 podrían haber causado toxicidad por fenitoína. (35)

2) *CYP2E1*

Estos polimorfismos pueden explicar las diferencias en la incidencia de hepatitis por fármacos antituberculosos (ATDH) entre diferentes poblaciones. Los genotipos de riesgo propuestos para ATDH incluyen el acetilador lento de la N-acetiltransferasa 2 (*NAT2*), el tipo salvaje homocigoto del citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*) y el genotipo nulo homocigoto de la glutatión S- La isoniacida es acetilada por NAT2 en acetilisoniacida, que luego se hidroliza en acetilhidrazina en el hígado. La acetilhidrazina puede ser acetilada nuevamente en diacetilhidrazina por *NAT2* y oxidada por el citocromo *CYP2E1* en metabolitos). Una pequeña fracción de isoniacida se hidroliza directamente para generar hidrazina. Tanto la hidrazina como la acetilhidrazina son tóxicas para el hígado. Por lo tanto, *CYP2E1* y *NAT2* son las dos enzimas importantes para los fármacos antituberculosos, especialmente para la isoniacida. En los últimos años, varios nuevos estudios han sido publicados sobre la relación entre los polimorfismos de *CYP2E1* y ATDH y varios estudios indican que el genotipo c1/c1 de *CYP2E1* puede ser un factor de riesgo para ATDH. Sin embargo, el papel e importancia de *CYP2E1* en ATDH sigue siendo controvertido. Los estudios individuales pueden haber tenido un poder insuficiente para detectar efectos generales. El propósito del estudio descrito aquí fue revisar sistemáticamente y meta-analizar todos los estudios de casos y controles publicados diseñados para evaluar la fuerza de las asociaciones genéticas postuladas entre los polimorfismos de *CYP2E1* y la susceptibilidad a ATDH con TB pulmonar.(36)

La actividad de *NAT2* se clasifica en tres categorías principales: acetiladores rápidos (RA), intermedios (IA) y lentos (SA). El tipo SA produce una actividad enzimática *NAT2* reducida y un

metabolismo de INH más lento en comparación con los tipos RA o IA, lo que conduce a concentraciones plasmáticas de INH más altas, una exposición prolongada al fármaco y un mayor riesgo de toxicidad por INH, especialmente hepatotoxicidad (37) Por el contrario, el tipo RA produce una actividad enzimática *NAT2* mejorada y un metabolismo de INH más rápido en comparación con los tipos SA o IA, lo que conduce a concentraciones plasmáticas de INH más bajas, una exposición más corta de MTB a INH y un mayor riesgo de fracaso del tratamiento (39). La administración de una dosis de INH adaptada al genotipo *NAT2* puede optimizar los niveles plasmáticos de INH, lo que resulta en una mejor eficacia y una reducción de la lesión hepática. Sin embargo, la evidencia concluyente del efecto del genotipo *NAT2* sobre la PK, la seguridad y la eficacia de INH para pacientes con TB ha sido limitada(40).

La enzima *NAT2*, caracterizada por una variación significativa entre individuos debido a la variabilidad genética, metaboliza principalmente INH, un medicamento esencial en el régimen de tratamiento de la tuberculosis con características bactericidas (41,42). Entre el 75 y el 95% de la isoniazida (INH) se excreta por los riñones dentro de las primeras 24 h (43). Esta excreción ocurre principalmente en forma de acetilisoniazida y ácido isonicotínico, que son subproductos metabólicos. La isoniazida (INH) sufre una transformación metabólica por *NAT2* dentro del hígado, lo que lleva a la síntesis de acetilisoniazida (AcINH) (44). Posteriormente, AcINH sufre hidrólisis para convertirse en acetilhidrazina (AcHZ), que luego es oxidada por el citocromo *CYP2E1* para generar intermediarios hepatotóxicos (45). Estos metabolitos pueden causar daño a las células hepáticas, específicamente a los hepatocitos, al alterar su equilibrio normal o al desencadenar respuestas inmunológicas. En el proceso de estas reacciones inmunológicas, los metabolitos que están conectados a las proteínas en el plasma de los hepatocitos pueden funcionar como haptenos (46). Otra vía metabólica para la síntesis de metabolitos perjudiciales implica la conversión enzimática de INH a hidrazina, un compuesto altamente tóxico que tiene el potencial de inducir daño hepático (44). *NAT2* es la enzima responsable de la conversión enzimática de AcHZ en diacetilhidrazina (DiAcHZ), un compuesto no tóxico. Se cree que GST, una enzima desintoxicante esencial de fase II, el cual cumple la función de un depurador intracelular de radicales libres, proporcionando un papel protector. Esto se logra fusionando glutatión con metabolitos perjudiciales generados por *CYP2E1* (47). La conjugación de sulfhidrilo aumenta la eliminación de metabolitos del cuerpo y reduce sus efectos perjudiciales. La exposición inadecuada a INH, que está directamente relacionada con la concentración del medicamento, puede conducir al fracaso del

tratamiento y a la aparición de resistencia a los medicamentos (44).

CYP2E1 es una enzima del citocromo P450 implicada en la generación de metabolismo rápido MR a partir de INH, aunque estudios realizados con ratones deficientes en *CYP2E1* han puesto en duda esta hipótesis (48). Por el contrario, estudios clínicos han sugerido una asociación entre el genotipo *CYP2E1* c1/c1, que presenta una mayor actividad de *CYP2E1*, y la hepatotoxicidad por INH (49).

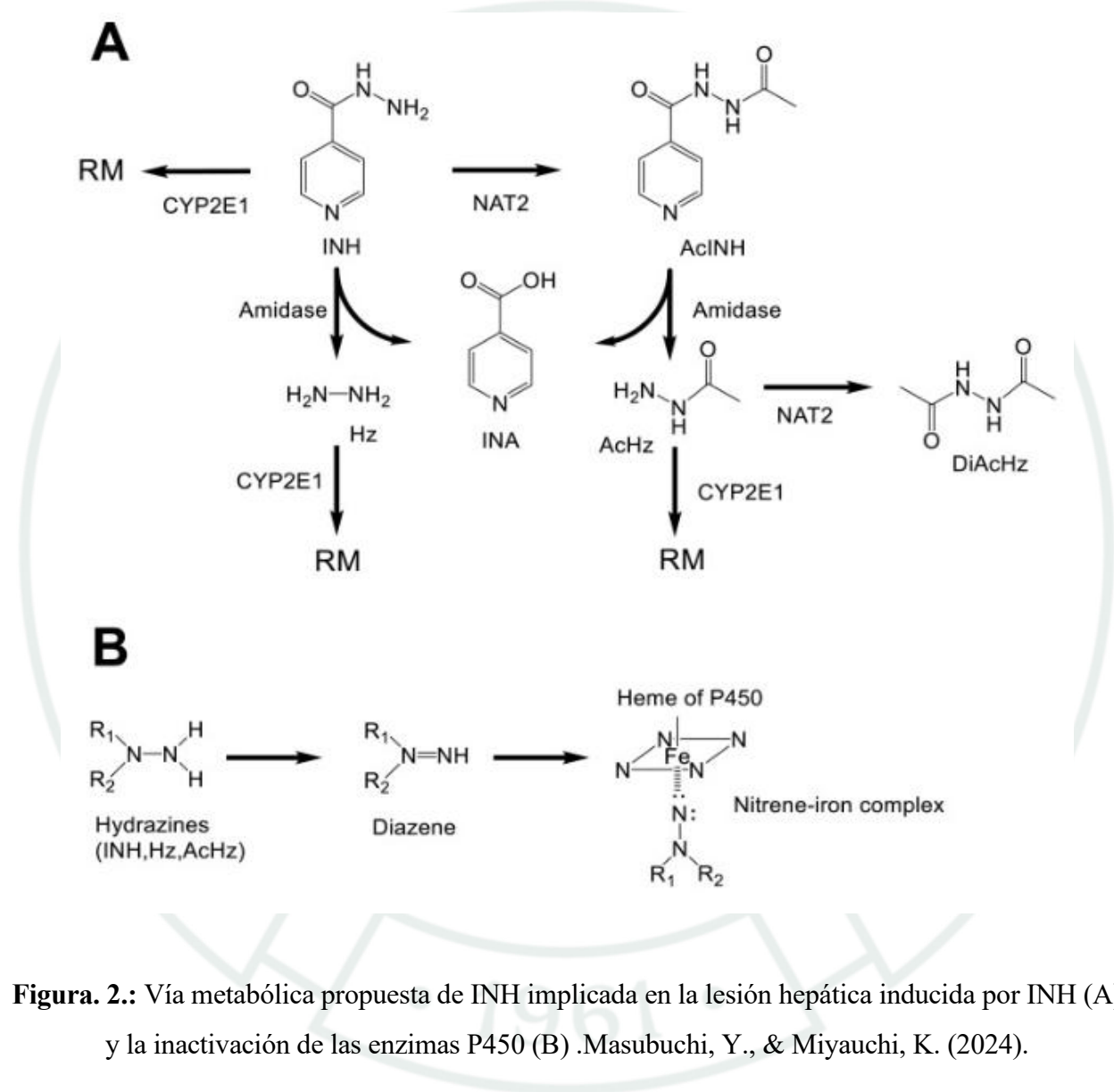


Figura. 2.: Vía metabólica propuesta de INH implicada en la lesión hepática inducida por INH (A) y la inactivación de las enzimas P450 (B) .Masubuchi, Y., & Miyauchi, K. (2024).

La unión covalente de INH a *CYP2E1* se ha detectado mediante la incubación de *CYP2E1* con INH en presencia de NADPH, y además, se han encontrado anticuerpos *CYP2E1* que se unen a INH y autoanticuerpos contra P450, incluido *CYP2E1*, en el suero de pacientes con lesión hepática inducida

por INH, lo que confirma un mecanismo inmunomediado . Esto sugiere que los anticuerpos contra P450 pueden no formarse si el grado de unión covalente a la proteína P450 es insuficiente para causar inhibición enzimática suicida; por el contrario, la aparición de inhibición enzimática suicida sería una evidencia de un mecanismo inmunológico (49).

3) *SLCO1B1*:

La rifampicina es un sustrato de la glicoproteína P de la bomba de flujo del fármaco, codificada por el gen *ABCB1* . La excreción biliar de rifampicina se produce después de la captación hepatocelular, que está mediada principalmente por el polipéptido transportador de aniones orgánicos 1B1 (OATP1B1), codificado por el gen *SLCO1B1*. El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) C463A *SLCO1B1* se ha asociado recientemente con una exposición reducida a la rifampicina.(50)

El polipéptido transportador de aniones orgánicos 1B1 (OATP1B1) es una proteína que esta compuesta por 691 aminoácidos, cuya localización principal es la membrana basolateral (sinusoidal) de los hepatocitos. Esta molécula es producto de la expresión del gen *SLCO1B1*, perteneciente a la familia de transportadores de solutos de aniones orgánicos, conformado por 15 exones y situado en el cromosoma 12. El OATP1B1 constituye uno de los transportadores de entrada más relevantes a nivel de membrana, siendo responsable de la captación activa de múltiples sustratos desde la circulación hacia el interior de los hepatocitos. La rifampicina (RF) se reconoce como un sustrato de alta afinidad para esta proteína transportadora . Hasta la fecha, están descritas aproximadamente 190 variantes genómicas del gen *SLCO1B1* con frecuencias alélicas superiores al 5%. Dentro de estas, destacan de manera particular rs4149056 y rs2306283, que han sido ampliamente estudiadas y caracterizadas (51).

El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs4149056, ubicado en el exón 5 (c.521T>C; donde el alelo T corresponde al tipo silvestre y el alelo C a la variante), estaría ocasionando un cambio de valina a alanina en la posición 174. Esta sustitución se ha relacionado con una disminución en la expresión y actividad del transportador tanto en modelos in vitro como in vivo. En consecuencia, los medicamentos que utilizan OATP1B1 como vía de transporte pueden alcanzar mayores concentraciones plasmáticas cuando está presente el alelo C, debido a una menor capacidad de

captación celular. Allegra y colaboradores evidenciaron que pacientes con tuberculosis portadores del polimorfismo rs4149056 presentan niveles plasmáticos más elevados de RF. Los análisis multivariados mostraron que dicho genotipo constituye un predictor significativo del aumento en la concentración mínima y máxima de rifampicina en la segunda semana de tratamiento (38). La frecuencia de este genotipo ha sido reportada en un 28,3% en poblaciones amerindias, 5,7% en individuos de origen africano, 14,9% en mulatos y 14,8% en caucásicos. Estudios europeos también describen prevalencias de 15% en poblaciones alemana y turca, así como en el Reino Unido (52).

Por otro lado, el SNP rs2306283 (c.388A>G), ubicado en el exón 4 de *SLCO1B1*, produce la sustitución de asparagina por ácido aspártico en la posición 130. Los efectos funcionales de este polimorfismo no son concluyentes, pues se han obtenido resultados discordantes que podrían depender del sustrato analizado. Domphe et al. describieron que rs2306283 se asocia con niveles más bajos de rifampicina en niños con tuberculosis, destacando que pacientes homocigotos 1b (AA) mostraron concentraciones plasmáticas significativamente reducidas, además de un mayor aclaramiento y volumen de distribución en comparación con los portadores del alelo silvestre (GG). Sin embargo, estudios realizados en poblaciones chilenas, macedonias y albanesas reportaron frecuencias de homocigotos *1b (AA) más elevadas, con valores de 18,6%, 33,1% y 30,8%, respectivamente (53,54).

Asimismo, investigaciones de Chigutsa y Gengiah evidenciaron una alta prevalencia del polimorfismo intrónico rs4149032 (g.38664C>T), localizado en el intrón 2 y considerado un SNP marcador de haplotipos (tSNP). Este polimorfismo podría asociarse con una menor exposición a rifampicina en poblaciones africanas, lo que sugiere la necesidad de ajustes en la dosificación. No obstante, las implicancias funcionales exactas de rs4149032 sobre la expresión de *SLCO1B1* aún no se han dilucidado (55). En algunos pacientes sudafricanos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar, la frecuencia alélica de este polimorfismo llegó hasta un 70%, observándose reducciones en la biodisponibilidad de 18% en heterocigotos y 28% en homocigotos. Al realizarse algunos modelos de simulación, estos mostraron que dichos portadores requerirían incrementos de dosis de aproximadamente 150 mg/día de rifampicina para alcanzar niveles plasmáticos comparables a individuos no diagnosticados (56).

De forma complementaria, Weiner et al. identificaron que el polimorfismo rs11045819 (c.463

C>A), localizado en el exón 4 y que produce el reemplazo de prolina por treonina en el aminoácido 155, se asocia con una disminución en la exposición sistémica a rifampicina. Pacientes con tuberculosis africanos, estadounidenses y españoles presentaron prevalencias de 19%, 11% y 25%, respectivamente. Los portadores del alelo variante (CA) mostraron una exposición 42% menor (25,6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$), reducciones del 34% en la $C_{\text{máx}}$ (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y un incremento del 63% en el aclaramiento oral, en comparación con el genotipo silvestre (CC). Sin embargo, estudios más recientes en poblaciones africanas, así como investigaciones en India y Tanzania, no encontraron asociaciones significativas entre los polimorfismos de *SLCO1B1* y la farmacocinética de la rifampicina (57).

En conclusión, existe una evidencia de los polimorfismos rs4149056, rs2306283, rs4149032 y rs11045819 de *SLCO1B1* y su influencia en la farmacocinética de la rifampicina que nos resulta inconsistente entre distintas poblaciones. Estas discrepancias podrían atribuirse a factores como el tamaño muestral limitado, diferencias étnicas, variabilidad en los protocolos de recolección de muestras, métodos analíticos y características individuales (peso corporal, adherencia terapéutica, entre otros). Por ello, se requieren estudios adicionales que permitan caracterizar con mayor precisión las consecuencias funcionales de estas variantes genéticas en diferentes grupos poblacionales.

Peñaloza, et al realizaron un estudio a 37 pacientes con tuberculosis mediante un desarrollo epidemiológico de casos y controles tuvo el propósito de relacionar los polimorfismos del gen *NAT2* con el daño hepático por Isoniacida, plantearon como objetivo general el estudio de la asociación entre la presencia de los polimorfismos C282T (Rs1041983) y G590A (Rs1799930) de *NAT2* con el desarrollo de hepatotoxicidad como causa de reacción adversa medicamentosa a isoniacida (RAM). La presencia de polimorfismos se evaluó a través de Real-Time PCR. Obteniendo como resultado que el 32,43% del total de pacientes estudiados, presentaron hepatotoxicidad, determinaron la frecuencia de los polimorfismos, para la variante rs1041983 la frecuencia del alelo T es de 34% y para la variante rs1799930, la frecuencia del alelo A es de un 11%. Finalmente determinaron que la variante rs1041983 tiene OR de riesgo de 7,50 para modelo de herencia dominante. (28). El estudio realizado por Levano en el 2021, se evaluaron 395 pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar que completaron su tratamiento antituberculoso encontrándose una alta prevalencia de metabolizadores lentos a la isoniazida, la frecuencia de rs1803155 (alelo *AADAC*2*) fue mayor (99,9%) en peruanos que en las

poblaciones europea americana, afroamericana, japonesa y coreana. (9) Lee et al. estudió a pacientes mayores de 12 años que estuvieron en contacto directo con pacientes positivos para tuberculosis pulmonar; demostrando una relación significativa entre los genes *NAT2* y *CYP2E1* con el desarrollo de reacciones adversas medicamentosas como la toxicidad hepática. reclutó pacientes con tratamiento de rifampicina e isoniacida para analizar los SNPs presentes en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *AADAC*. En sus resultados encontraron que las mutaciones presentes en el 10% de los pacientes se asociaban al desarrollo de reacciones sistémicas a la droga. Igualmente, los SNPs relacionados fueron *NAT2* rs1041983 TT vs CC+CT, y *CYP2E1* rs2070673 AA vs. TT+AT. (29).

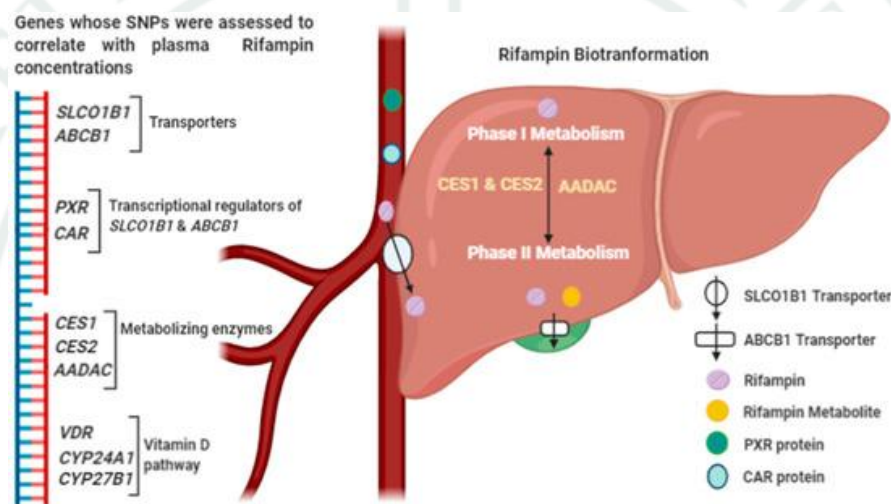


Figura 3. Diagrama esquemático que representa los genes y SNP con concentraciones plasmáticas de RF y la biotransformación de RF. (57)

Richardson et al utilizó una revisión sistemática y metaanálisis, donde se buscaron estudios en varias bases de datos y se incluyeron datos de 41 artículos, evaluó la calidad de los estudios incluidos, con preocupaciones en varias áreas. Se encontró que los acetiladores lentos/intermedios de *NAT2* eran significativamente más propensos a experimentar hepatotoxicidad que los acetiladores rápidos. La asociación entre el estado de acetilación de *NAT2* y la hepatotoxicidad relacionada con los medicamentos antituberculosos fue estadísticamente significativa. En conclusión, se encontraron desafíos en la síntesis de datos de estudios farmacogenéticos, y se proponen recomendaciones para futuros informes de estos estudios.(8).

Meitei, et al tuvieron como objetivo monitorear polimorfismos de los genes *NAT2*, *PXR*, *ABCB1* y *GSTT1* en pacientes con TB de tres estados (Manipur, Tripura y Nagaland) en la Región Nororiental de India, ellos aislaron ADN genómico de muestras de sangre completa de pacientes con TB (n=219; Manipur:139; Tripura: 60; Nagaland: 20). El análisis de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) se llevó a cabo mediante ensayos de discriminación alélica TaqMan, junto con herramientas estadísticas para evaluar la distribución genética. Se observó un fuerte desequilibrio de ligamiento (LD) entre rs1801280 y rs1799931 del gen *NAT2*. La mayoría de las poblaciones estudiadas eran intermedias (~46.1%), el resto eran o bien acetiladores lentos (~35.6%) o acetiladores rápidos. Interesantemente, ~55% de los pacientes con TB en Tripura eran acetiladores lentos y la mayoría en Manipur y Nagaland eran de genotipos de acetiladores intermedios. Para todos los marcadores investigados, la población tenía una mayor prevalencia de alelos y genotipos ancestrales, con lo cual se podría asociar los genotipos asociados con AT-DILI, ~26.1% de la población poseía los genotipos de riesgo.(60)

Kim et al, reclutó prospectivamente pacientes con TB pulmonar activa que estaban tomando rifampicina durante >1 semana. Se determinó el genotipo de 4 polimorfismos de un solo nucleótido de *SLCO1B1*. Se llevó a cabo un análisis de farmacocinética poblacional para estimar el aclaramiento y la exposición al fármaco. También se evaluaron resultados clínicos como el tiempo hasta la conversión de cultivos de bacterias ácido-alcohol resistentes, los cambios en la puntuación de radiografías de tórax desde el inicio y la mortalidad por cualquier causa. Se comparó la exposición entre diferentes genotipos de *SLCO1B1* y se exploró la relación entre la exposición al fármaco y los resultados clínicos, obtuvo que la edad media de los pacientes fue de 55.4 años. El aclaramiento medio del fármaco y la exposición fueron de 13.6 L/h y 57.9 mg h/L, respectivamente. Los polimorfismos genéticos de *SLCO1B1* no estuvieron relacionados con el aclaramiento o la exposición a la rifampicina. A medida que aumentaba la exposición a la rifampicina, las radiografías de tórax mejoraban significativamente, pero la duración de la conversión de cultivos de bacterias ácido-alcohol resistentes no estuvo relacionada con la exposición al fármaco. Los polimorfismos del gen *SLCO1B1* no influyeron en las concentraciones de rifampicina ni en los resultados clínicos en pacientes coreanos con TB pulmonar activa. (54).

Lee SW et al, investigaron la asociación entre hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos

y polimorfismos genéticos en pacientes coreanos. Se evaluaron los genes *NAT2* y *CYP2E1* en 132 pacientes con tuberculosis que recibieron tratamiento antituberculoso. Se encontró que los pacientes con una velocidad de acetilación lenta de *NAT2* tenían una incidencia más alta de hepatotoxicidad en comparación con los acetiladores rápidos. Sin embargo, no se encontró una asociación significativa entre los genotipos de *CYP2E1* y la hepatotoxicidad. En conclusión, el estado de acetilación lenta de *NAT2* fue un factor de riesgo significativo para la hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos en estos pacientes, lo que sugiere que la genotipificación de *NAT2* puede ser útil como herramienta de detección.(29).

Yadav et al. . Trataron con 100 pacientes con medicamentos antituberculosos, de los cuales 70 pacientes no desarrollaron hepatotoxicidad inducida por medicamentos (grupo control tolerante) y 30 pacientes sí la desarrollaron (grupo ATDIH). Analizaron los polimorfismos genéticos de los genes *NAT2* mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (PCR-RFLP). Se analizaron las frecuencias genotípicas y alélicas mediante la prueba *t*, y la magnitud de las asociaciones se estimó utilizando razones de probabilidad (OR) con sus respectivos intervalos de confianza al 95% (IC). Los hallazgos evidenciaron una elevada prevalencia de acetiladores lentos en la población del este de Uttar Pradesh: el 4% correspondió a acetiladores rápidos, el 34% a acetiladores intermedios y el 62% a acetiladores lentos. La frecuencia de acetiladores lentos en el genotipo *NAT2* estaba presente comúnmente y no difería significativamente entre los grupos ATDIH (73.33%) y el grupo control tolerante (61.40%). Sin embargo, la distribución genotípica de las variantes de los genotipos de acetiladores lentos (*NAT26/7*, *NAT25/7* y *NAT2*5/6*) tampoco difería significativamente en ATDIH. En conclusión, los acetiladores lentos del genotipo *NAT2* no contribuyeron al aumento del riesgo de desarrollo de ATDIH en pacientes con tuberculosis. Yang S. 2019, investigaron la asociación entre polimorfismos genéticos de la N-acetiltransferasa 2 (*NAT2*), citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*), glutatión S-transferasa (*GST*) y el transportador de aniones orgánicos miembro 1B1 de la familia soluto portador (*SLCO1B1*) y el riesgo de lesión hepática inducida por fármacos antituberculosos (ATDILI), de lo cual obtuvo 54 estudios en este análisis (n=26 para *CYP2E1*, n=35 para *NAT2*, n=19 para *GST*, n=4 para *SLCO1B1*). El riesgo de ATDILI aumentó significativamente con los siguientes genotipos: *CYP2E1* RsaI/PstI c1/cl, *NAT2* acetilador lento y *GSTM1* nulo. No se encontró asociación significativa con ATDILI para los polimorfismos genéticos de *CYP2E1* DraI, *GSTT1*, *GSTM1/GSTT1*, *SLCO1B1* 388A>G y *SLCO1B1* 521T>C. Concluyendo

que la ATDILI es más probable en pacientes con genotipo de acetilador lento de *NAT2*, genotipo *CYP2E1* RsaI/PstI c1/c1 y genotipo *GSTM1* nulo. Sugirieron un monitoreo cercano para pacientes con estos genotipos.(61).

Pourmohamadi et al, llevaron a cabo un estudio observacional en una cohorte de 120 pacientes con tuberculosis pulmonar, con y sin manifestaciones de hepatotoxicidad. La identificación de los polimorfismos de los genes *NAT2* y *CYP2E1* se realizó utilizando técnicas de reacción en cadena de la polimerasa combinadas con análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción. Del total de participantes, 40 desarrollaron hepatotoxicidad. Los resultados mostraron que el riesgo de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos fue significativamente mayor en individuos con fenotipo de acetilador lento en comparación con los acetiladores rápidos o intermedios. No se detectó el genotipo *NAT24/4* en los pacientes que presentaron hepatotoxicidad. Asimismo, se observó que la frecuencia de los haplotipos *NAT25* y *NAT26*, así como las concentraciones séricas de INH, fueron significativamente superiores en el grupo con hepatotoxicidad respecto a aquellos sin esta complicación ($p = 0,003$; $p < 0,001$ y $p < 0,001$, respectivamente). En contraste, el haplotipo *NAT24* mostró una asociación protectora frente al desarrollo de hepatotoxicidad. Adicionalmente, la combinación del fenotipo de acetilador lento se asoció de manera significativa con la aparición de hepatotoxicidad, estos hallazgos confirman que en pacientes iraníes con tuberculosis, la presencia del polimorfismo *NAT2* asociado al fenotipo de acetilador lento constituye un factor relevante en la hepatotoxicidad inducida por el tratamiento. La evaluación de los genotipos *NAT2* y *CYP2E1*, así como la medición de los niveles séricos de INH, podrían ser herramientas útiles para identificar a individuos con mayor susceptibilidad a este efecto adverso(59).

Khan et al, En su revisión nos da a entender sobre la tuberculosis (TB) que continúa siendo una enfermedad infecciosa importante que afecta a individuos en todo el mundo. La estrategia actual de tratamiento de la TB recomienda el régimen estándar de quimioterapia de corta duración que contiene fármacos de primera línea, es decir, isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol, para tratar a pacientes con TB sensible a fármacos. Aunque *Mycobacterium tuberculosis*, el agente causante, es susceptible a los fármacos, algunos pacientes no responden al tratamiento o este puede provocar reacciones adversas graves. Muchos estudios han revelado que la toxicidad relacionada con los fármacos antituberculosos está asociada con variaciones genéticas. Por lo tanto, las diversidades

interindividuales juegan un papel característico al influir en los genes involucrados en las vías de metabolismo de fármacos. El desarrollo de la farmacogenómica podría revolucionar el campo del tratamiento, y la comprensión de las variantes de línea germinal podría dar lugar a tratamientos dirigidos optimizados y mejorar la respuesta a la terapia estándar. (32).

La rifampicina es un fármaco clave en la tuberculosis, pero existen variantes genéticas en los genes *SLCO1B1* y *SLC10A1* que pueden afectar el transporte de fármacos y, por tanto, modificar la respuesta a la rifampicina, en la actualidad aún se desconoce si existe alguna relación entre los polimorfismos genéticos, comorbilidades y la exposición a este antibiótico. Perea-Jacobo R. et al, evaluó la frecuencia de polimorfismos en *SLCO1B1* y *SLC10A1* y su relación con la farmacocinética de la rifampicina en pacientes con TB y TB asociada a diabetes mellitus tipo 2 (TB-DM2) en México, analizó por secuenciación de Sanger varios polimorfismos (rs2306283, rs11045818, rs11045819, rs4149056, rs4149057, rs72559746, rs2291075 y rs4603354 en *SLCO1B1*; rs4646285 y rs138880008 en *SLC10A1*). Ninguno mostró asociación significativa con los niveles máximos de rifampicina. (63)

Kim et al., realizó un estudio que incluyó a 105 pacientes con TB pulmonar activa que recibían rifampicina, evaluaron las concentraciones plasmáticas del fármaco y cuatro polimorfismos del gen *SLCO1B1*, mediante análisis farmacocinético poblacional, sus resultados mostraron que los polimorfismos de *SLCO1B1* no se asociaron con la depuración ni con la exposición a rifampicina. Sin embargo, una mayor se observó que una exposición al fármaco se relacionó con mejoría radiológica significativa, aunque no influyó en el tiempo de conversión de cultivo ni en la mortalidad, se determinó que no había relación ni impacto en la farmacocinética de la rifampicina entre los pacientes con TB pulmonar activa y las variantes de *SLCO1B1*(54).

En un estudio realizado por Sileshi et al , con 119 pacientes etíopes adultos con TB reciente tratados durante dos semanas, se evaluaron las concentraciones plasmáticas de rifampicina mediante LC-MS/MS y se analizaron polimorfismos en los genes *SLCO1B1* (c.388A>G, c.521T>C), *ABCB1* (c.3435C>T, c.4036A>G), *AADAC* (c.841G>A) y *CES-2* (c.269-965A>G). Los resultados mostraron que la mediana de $C_{m\acute{a}x}$ y AUC_{0-7h} fue de 6,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 17,05 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, respectivamente, alcanzando concentraciones terapéuticas solo el 30,3% de los pacientes ($C_{m\acute{a}x} > 8 \mu\text{g}/\text{mL}$). Se evidenció que el sexo, la dosis administrada y el polimorfismo *ABCB1* c.4036A>G fueron predictores

significativos de la exposición a rifampicina, mientras que *AADAC* c.841G>A se asoció a menores niveles plasmáticos; en contraste, las variantes de *SLCO1B1*, *ABCB1* c.3435C>T y CES-2 no mostraron influencia relevante. En conjunto, estos hallazgos revelan que dos tercios de los pacientes presentaron niveles subterapéuticos, y que los varones y los portadores de los genotipos *AADAC* c.841G/G o *ABCB1* c.4036A/A presentan un mayor riesgo de baja exposición, lo que plantea la necesidad de considerar esquemas de dosis más altas para mejorar la eficacia terapéutica en esta población.(42)

En su metaanálisis Yang et al, evaluó la relación entre polimorfismos genéticos y el riesgo de lesión hepática inducida por fármacos antituberculosos (ATDILI), considerando variantes de *NAT2*, *CYP2E1*, *GST* y *SLCO1B1*, de los 54 estudios publicados en PubMed, Embase, Web of Science y Cochrane hasta abril de 2019, incluyendo diseños de casos y controles y cohortes, halló que los pacientes con genotipo acetilador lento de *NAT2*, *CYP2E1* RsaI/PstI c1/c1 y delección *GSTM1* presentaron un riesgo significativamente mayor de desarrollar hepatotoxicidad, mientras que no se encontraron asociaciones relevantes para *CYP2E1* DraI, *GSTT1*, combinaciones *GSTM1/GSTT1* ni para los polimorfismos de *SLCO1B1* (388A>G y 521T>C, se podría concluir que la predisposición genética influye en la susceptibilidad a ATDILI, siendo clave el genotipo acetilador lento de *NAT2* y variantes específicas de *CYP2E1* y *GST*, por lo que se recomienda un monitoreo más estrecho en pacientes portadores de estos perfiles genéticos.(50).

El transportador hepático OATP1B1, codificado por el gen *SLCO1B1*, cumple una función clave en la captación y eliminación hepática de múltiples fármacos, entre ellos las estatinas, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, diversos agentes quimioterapéuticos y antibióticos. Diferentes polimorfismos en este gen se han asociado con efectos clínicos relevantes sobre la respuesta terapéutica y la eficacia de estos medicamentos. Goljan et al evaluó la variabilidad genética de *SLCO1B1* en una muestra poblacional de 11 889 individuos de nacionalidad saudí, con el objetivo de identificar la presencia y frecuencia de variantes descritas por el Consorcio de Implementación Farmacogenética Clínica (CPIC), en este análisis se detectó 141 polimorfismos de un solo nucleótido previamente reportados, siendo los más prevalentes rs2306283 (50 %) y rs4149056 (28 %). Asimismo, se identificaron seis alelos con relevancia clínica: *15 (24,7 %), *20 (8,04 %), *14 (5,86 %), *5 (3,84 %), *31 (0,21 %) y *9 (0,03 %). La asignación de diplotipos a fenotipos funcionales evidenció un total

de 41 combinaciones distintas de actividad de OATP1B1. En conjunto, los resultados obtenidos en una de las cohortes árabes de mayor tamaño analizadas hasta el momento proporcionan una caracterización integral de las variantes de *SLCO1B1* y de la actividad funcional de OATP1B1 en esta población, la cual continúa estando escasamente representada en bases de datos genómicas internacionales, sus hallazgos nos dan una referencia para futuras investigaciones clínicas y respaldan la implementación de estrategias de farmacogenética, dirigida principalmente en la personalización del tratamiento con estatinas en la población árabe(65).



CAPITULO II

METODOLOGIA

2.1. Consideraciones éticas

El presente trabajo corresponde a un estudio descriptivo de tipo transversal, cuyo objetivo fue evaluar la frecuencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* en pacientes con tuberculosis en tratamiento con fármacos antituberculosos. El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Nacional Carlos Alberto Segúin Escobedo. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado por escrito antes de su inclusión en el estudio, en cumplimiento con la Declaración de Helsinki y las normativas éticas vigentes.

2.2. Población y muestra

La población de estudio estuvo conformada por 40 pacientes, fueron seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión previamente definidos y estandarizados. Todos los pacientes presentaron un diagnóstico microbiológico confirmado de tuberculosis pulmonar activa, establecido mediante baciloscopia, cultivo en medio sólido o líquido, y prueba molecular GeneXpert MTB/RIF, lo que aseguró la validez diagnóstica de la cohorte. Los participantes procedían de la zona sur del Perú, considerada una región de alta endemia tuberculosa, lo que otorga relevancia epidemiológica al análisis.

Asimismo, estos pacientes fueron considerados pertinentes para el estudio por la heterogeneidad genética potencial en genes relacionados con el metabolismo y transporte de fármacos. En particular, se evaluó la posible influencia de variantes en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* sobre la metabolización de isoniazida y rifampicina, fármacos esenciales en el tratamiento antituberculoso. Este estudio busca aportar evidencia en el campo de la farmacogenómica aplicada a la tuberculosis, permitiendo identificar perfiles genéticos asociados a mayor riesgo de toxicidad hepática, fracaso terapéutico o desarrollo de resistencia adquirida en nuestra Región.

2.3. Obtención y procesamiento de muestras

Una vez firmado el consentimiento informado de cada participante, se procedió a la recolección de muestras de sangre periférica mediante venopunción estándar en condiciones de asepsia. A cada paciente se le extrajo un volumen de 3 mL de sangre, el cual fue inmediatamente depositado en tubos estériles con anticoagulante EDTA, a fin de evitar la coagulación y preservar la integridad celular. Posteriormente, las muestras fueron transportadas bajo estricta cadena de frío (4 °C) hacia el laboratorio de procesamiento, siguiendo protocolos de bioseguridad y control de calidad.

2.3.1. Aislamiento de ADN genómico

La extracción de ADN genómico se realizó con el Kit NZY Tissue gDNA a partir de 200 µl de capa leucocitaria (buffy coat), previamente separada mediante centrifugación a 2600 rpm durante 5 minutos. A cada muestra se le añadió 25 µl de solución de Proteinasa K y 200 µl de Buffer NL (previamente homogenizado), agitando vigorosamente en vórtex para garantizar la ruptura inicial de membranas. Posteriormente, se efectuó una etapa de pre-lisis mediante la adición de 180 µl de Buffer NT1 y 25 µl adicionales de Proteinasa K, continuando con una incubación de 10 minutos a 56 °C con agitación intermitente, lo que favoreció la desnaturalización de proteínas y la disociación de complejos nucleoproteicos.

La muestra se sometió a una segunda lisis con 200 µl de Buffer NL, mezclando en vórtex durante 10 segundos. En los casos en que se observaron partículas insolubles, se procedió a centrifugar brevemente y transferir el sobrenadante a un nuevo tubo estéril. Seguidamente, se adicionaron 210 µl de etanol absoluto y se agitó en vórtex para inducir la precipitación y unión del ADN a la membrana de sílica.

La mezcla homogénea se transfirió a una columna de purificación NZYSpin Tissue insertada en un tubo colector de 2 mL y se centrifugó a $>11,000 \times g$ por 1 minuto, descartando el flujo a través de la membrana. La columna fue sometida a dos lavados secuenciales: el primero con 500 µl de Buffer NW1 y el segundo con 600 µl de Buffer NW2, centrifugando cada vez y eliminando el flujo retenido. Para muestras de origen fecal, se aplicó un segundo lavado adicional con Buffer NW2 para asegurar la eliminación completa de contaminantes.

A continuación, se realizó una centrifugación final de 2 minutos para garantizar el secado completo de la membrana de sílica y evitar la presencia de etanol residual, que pudiera interferir en análisis posteriores. El ADN se eluyó con 100 μ l de Buffer NE precalentado a 70 °C, incubando 5 minutos a temperatura ambiente y centrifugando nuevamente a 11,000 \times g. El ADN purificado se almacenó a – 20 °C hasta su posterior utilización.

2.3.2. Análisis de la calidad e integridad del ADN

La pureza se evaluó con un espectrofotómetro Implen NanoPhotometer™ NP80 UV/Vis se midió las relaciones de absorbancia 260/280, indicativa de contaminación proteica y 260/230 nm, asociada a la presencia de compuestos orgánicos o sales. Se consideraron valores adecuados de A260/A280 entre 1.8–2.0 y A260/A230 superiores a 1.8.

La integridad del ADN obtenido se evaluó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa, se preparó un gel de agarosa al 1 % en tampón TAE 1X (40 mM Tris-acetato, 1 mM EDTA, pH 8.0), el cual se disolvió mediante calentamiento en horno microondas hasta que este transparente. Se dejó enfriar la solución aproximadamente a 50 °C, se añadió el agente intercalante SYBR Safe DNA Gel Stain (Thermo Fisher Scientific), y la mezcla se vertió en la bandeja de molde con el peine para la formación de pocillos.

Tras la polimerización, el gel se colocó en la cámara de electroforesis y se añadió el mismo tampón TAE 1X utilizado en la preparación del gel. En cada pocillo se cargó 5 μ L de ADN mezclados con 1 μ L de buffer de carga (Loading Dye 6X), como control de referencia de peso se cargó en el gel un marcador de peso molecular DNA Ladder de 100 pares de bases Thermo Fisher Scientific). La migración electroforética se llevó a cabo a un voltaje constante de 100 V durante 20 minutos, utilizando una fuente de poder Bio-Rad PowerPac.

La visualización de las bandas se realizó mediante un transiluminador UV Gel Doc (Bio-Rad). Se consideró ADN íntegro aquel que presentó una banda definida de alto peso molecular, sin evidencia de degradación (ausencia de smearing).

2.3.3. Amplificación por PCR punto final

Se estudió las regiones de interés de los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* los cuales fueron amplificados mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) punto final. Se empleó el kit Platinum Taq DNA Polimerasa (Invitrogen, USA) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Las reacciones se prepararon en un volumen final de 25 μ L, que contenían tampón de reacción 1X, cloruro de magnesio ($MgCl_2$) a una concentración final de 1.5 mM, dNTPs a 200 μ M, 0.2 μ M de cada cebador específico (forward y reverse), una unidad de Taq DNA polimerasa, entre 50 y 100 ng de ADN genómico y agua libre de nucleasas para completar el volumen total de la mezcla. Los cebadores específicos de los genes de estudio se diseñaron a partir de secuencias de referencia disponibles en la base de datos GenBank (NCBI) (Tabla N°1) y fueron los siguientes: para *NAT2*, F: 5'-GTCACACGAGGAAATCAAATGCT-3' y R: 5'-CGTGAGGGTAGAGAGAGGATATCTG-3'; para *CYP2E1*, F: 5'-CCGTGAGCCAGCTCGAGTCTA-3' y R: 5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTGGCAA-3'; y para *SLCO1B1*, F: 5'-GGGAAGATAATGGTGCAA-3' y R: 5'-CATCCAGTTCAGATGGACAAA-3'.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador BioRad (USA), el programa de ciclaje térmico previamente fue estandarizado para cada par de cebadores con el objetivo de optimizar la especificidad y el rendimiento de la reacción. El programa consistió en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento (annealing) a 55 °C por 30 segundos y extensión a 72 °C por 1 minuto y una extensión final a 72 °C durante 10 minutos, Las muestras fueron finalmente mantenidas a 4 °C hasta su recuperación para análisis posterior.

Los productos de la PCR fueron evaluados mediante electroforesis en gel de agarosa al 4% para poder observar con mayor resolución, se preparó agarosa con tampón TAE 1X y con Syber Safe. La corrida electroforética se realizó a 100 V durante 1 hora en una cámara horizontal de electroforesis (BioRad, USA). Los productos amplificados fueron visualizados en un transiluminador UV y registrados mediante una cámara fotográfica. Para confirmar el tamaño esperado de los fragmentos se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen, USA). En cada corrida de PCR se incluyó un control negativo, el cual consiste en una mezcla de reacción sin ADN molde, con el fin de descartar contaminación en los reactivos o en el procedimiento. Asimismo, se utilizó un control positivo de

ADN genómico previamente caracterizado, que permitió corroborar la eficiencia y especificidad de la reacción de amplificación.

Tabla N° 1 : Referencia de los genes utilizados, con acceso NCBI y localización cromosómica.

Gen	Acceso NCBI	Localización cromosómica
<i>NAT2</i>	NG_012246.1	8p22
<i>CYP2E1</i>	NG_008383.1	10q26.3
<i>SLCO1B1</i>	NG_011745.1	12p12.1

2.3.4 Purificación de producto de PCR

Los productos de PCR fueron purificados utilizando un kit de purificación por columnas de NZYtech, siguiendo el protocolo del fabricante. El volumen total de la reacción se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL, al cual se le añadió cinco volúmenes del Buffer de Unión. La mezcla se homogenizó invirtiendo el tubo varias veces y se centrifugó brevemente. Luego la mezcla se colocó en la columna de purificación NZYtech, se centrifugó 1 minuto, y se descartó el flujo colectado en el tubo colector. Posteriormente, se añadió 600 µL del Buffer de Lavado, se centrifugó nuevamente, y se eliminó el excedente. Para eliminar restos de etanol, se realizó una centrifugación adicional de un minuto. La columna se colocó en un tubo limpio y se adicionaron 50 µL del Buffer de Elución directamente en el centro de la membrana, se dejó reposar a temperatura ambiente durante un minuto antes de centrifugar por otro minuto para recuperar el ADN. Finalmente, el ADN purificado se almacenó a -20 °C. Las muestras seleccionadas para secuenciación fueron cuantificadas y diluidas hasta obtener una concentración de 15 ng/µL en volúmenes de 50 µL.

Culminada la purificación de los amplicones, se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, se preparó agarosa con tampón TAE 1X y con Syber Safe. La corrida electroforética se realizó a 100 V durante 20 minutos en una cámara horizontal de electroforesis (BioRad, USA). Los productos amplificados fueron visualizados en un transiluminador UV y registrados mediante una cámara fotográfica. Para confirmar el tamaño esperado de los fragmentos se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen, USA).

2.3.5. Secuenciación e identificación de polimorfismos genéticos

El genotipado de los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) presentes en los fragmentos purificados se realizó a través de la técnica de secuenciación de Sanger, llevada a cabo por el servicio de secuenciación de Macrogen, Corea del Sur, con el sistema AB3730XL-15106-001. Finalmente, las sustituciones de nucleótidos son identificadas mediante alineamiento con secuencias de referencia en bases de datos especializadas, lo que permite determinar los genotipos presentes en cada muestra.

2.3.6. Análisis Bioinformático

- Procesamiento y Base-Calling de Archivos Sanger

Para la obtención de secuencias de cada región amplificada, se desarrolló un protocolo estandarizado. El procesamiento inicial de los archivos .ab1 (electroferogramas) se realizó mediante el paquete sangerseqR del programa R v.4.2. Este código lee el archivo ab1 y realiza un proceso de base-calling empleando la función makeBaseCalls.

Para reconocer potenciales variantes, se estableció el parámetro de reconocimiento de picos secundarios (`secondary_ratio`) en 0.5, es decir, se consideraron como variantes alternas todos aquellos picos con 50% o más de altura en relación al pico primario, identificando cada combinación de nucleótidos, de acuerdo con los códigos de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC). Por ejemplo, una A y una C se codifican como M.

- Generación de Secuencias Consenso y Alineamiento

Una vez que se han identificado las bases primarias y secundarias, se generó una secuencia consenso para cada muestra. Este proceso se llevó a cabo utilizando la función `consensus_two_calls`, la cual integra las bases primaria y secundaria de la muestra para generar una secuencia única. El algoritmo prioriza la base primaria, a menos que la confianza en la base secundaria sea significativamente mayor (más de 0.2 puntos de confianza, en una escala de 0 a 1). En caso de bases diferentes con confianza

similar, se aplicó el código de ambigüedad de la IUPAC. Si ambas bases tienen una confianza inferior a un umbral mínimo preestablecido (0.5), se designó la base como una N (base no identificada).

Tras la generación de las secuencias consenso para todas las muestras, se prepararon para el alineamiento. Se incluyó una secuencia de referencia (REFERENCE) para cada región analizada. A continuación, se realizó un alineamiento de secuencias múltiples (MSA) utilizando la función AlignSeqs del paquete DECIPHER. El alineamiento se ancló a la secuencia de referencia (parámetro anchor = 1), asegurando que esta se utilizara como guía para la disposición de las demás secuencias. Finalmente, el alineamiento se guardó en un archivo en formato FASTA con la extensión .aln para su análisis posterior.

- Verificación manual de secuencias

Posteriormente, los archivos de alineamiento fueron revisados y curados manualmente, abriendo todos los archivos .ab1 en el programa SnapGeneViewer y curando las anotaciones usando el programa AliView v.1.3 (<https://ormbunkar.se/aliview/>). Para exportar el archivo de alineamiento en un formato amigable al usuario y compatible con lectores PDF (Formato SansSerif, tamaño 9, Coloreado según nucleótidos), se utilizó el programa JalView v.1.8 (<https://www.jalview.org/download/windows/>).

- Preprocesamiento de datos para llamado de variantes

Para este paso, retornamos al procesamiento de datos usando el lenguaje de programación R (v4.2.2). El flujo de trabajo inició con la lectura de un archivo de alineamiento de secuencias en formato FASTA, previamente curado de forma manual. Se estableció la ubicación genómica del fragmento de interés incluyendo el cromosoma y las posiciones de inicio y final (Versión de genoma GRCh38).

- Detección de variantes de nucleótido simple (SNVs)

Para la identificación de variantes genéticas, se realizó un rastreo exhaustivo posición por posición a lo largo de la secuencia de referencia alineada. Para cada posición, se comparó la base de referencia con las bases correspondientes en cada una de las secuencias de las muestras. Se aplicaron los siguientes criterios: (i) Se ignoraron las posiciones que contenían gaps (-) o bases desconocidas (N)

en la secuencia de referencia. (ii) Se consideraron las bases ambiguas (códigos IUPAC como R, Y, M, K, S, W, H, B, V, D, N) como posibles alelos heterocigotos, interpretándolas como una mezcla de sus bases constituyentes. (iii) Una posición fue clasificada como variante si al menos una muestra presentaba una base diferente a la base de referencia en esa misma posición.

- Asignación de genotipos y cálculo de frecuencias

Una vez identificada una posición con una variante, se procedió a la asignación del genotipo para cada muestra:

- Genotipo homocigoto de referencia (0/0): se asignó cuando la base de la muestra coincidía con la base de referencia.
- Genotipo homocigoto alternativo (1/1): se asignó cuando la base de la muestra coincidía con la variante.
- Genotipo heterocigoto (0/1): se asignó a las muestras que presentaban bases ambiguas que contenían el alelo de referencia y el alelo alternativo.
- Genotipo desconocido (./.): se asignó en casos de bases ausentes (gaps) o bases ambiguas que no coincidían con los alelos de referencia o alternativos.

Para cada variante, se calculó la frecuencia alélica (AF) del alelo alternativo. Este cálculo se basó en el recuento de los alelos alternativos en todas las muestras, ponderando las bases ambiguas como un 0.5 (asumiendo heterocigosidad), y dividiendo el resultado entre el número total de muestras.

- Generación del archivo de salida en formato VCF

Las variantes identificadas y los genotipos asignados se compilaron en un archivo en formato VCF (Variant Call Format) (v4.2). Este archivo incluyó información detallada para cada variante, como la posición cromosómica, la base de referencia, los alelos alternativos, la frecuencia alélica y el genotipo de cada una de las muestras. La etiqueta FILTER se estableció en PASS para todas las variantes, indicando que cumplieron con los criterios de filtrado establecidos.

- Anotación de variantes

El archivo VCF generado en el paso anterior fue cargado en el sistema Ensembl VEP (Ensembl Variant Effect Predictor, <https://useast.ensembl.org/Tools/VEP>), solicitando informaciones de frecuencia alélica (en proyectos Gnome_AD y 1000 genomas), además de anotación, evaluación de patogenicidad y reconocimiento de referencias previas (identificación de SNPs en bases de datos dbSNPs).

2.4. Haplotipos de NAT2 y fenotipo acetilador

Los haplotipos del gen NAT2 se caracterizan por la presencia de distintos polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), los cuales han sido ampliamente descritos y documentados en la literatura científica (Boukouvala, 2016). Estos haplotipos constituyen la base para la definición del fenotipo acetilador, de relevancia clínica en farmacogenética, ya que determinan la capacidad metabólica del individuo frente a la isoniazida (INH) y otros fármacos metabolizados por la enzima N-acetiltransferasa 2. En este contexto, en el presente trabajo clasificamos a nuestros pacientes en tres categorías: acetiladores rápidos, cuando presentan dos alelos asociados a un metabolismo enzimático eficiente; acetiladores lentos, cuando portan dos alelos de actividad reducida; y acetiladores intermedios, cuando son portadores heterocigotos, es decir, combinan un alelo de metabolismo rápido con otro de metabolismo lento.

2.5 Análisis estadístico de los métodos diagnósticos y la distribución etaria en tuberculosis

La información referente al diagnóstico de tuberculosis fue recopilada a partir de las historias clínicas y registros de laboratorio de los pacientes incluidos en el estudio en fichas epidemiológicas. Los casos fueron clasificados de acuerdo con el tipo de tuberculosis (pulmonar o extrapulmonar) y el método diagnóstico empleado (baciloscopía, cultivo o prueba molecular GeneXpert MTB/RIF).

En cuanto a la caracterización demográfica, se evaluó la variable edad de los pacientes en relación con el método diagnóstico de la tuberculosis pulmonar. Para ello, se calcularon medidas de tendencia central (media y desviación estándar). Para el análisis inferencial, se utilizó la prueba de chi cuadrado (χ^2) con el objetivo de evaluar la asociación entre el tipo de tuberculosis y el método diagnóstico empleado

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados relacionados con la identificación y caracterización de los polimorfismos genéticos analizados en la población estudiada. Se detallarán las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas, así como su distribución, y se contrastan estos hallazgos con lo previamente reportado en otras investigaciones. De esta manera, se busca resaltar la relevancia de las variantes observadas y su aporte al entendimiento del perfil genético asociado a la tuberculosis en el contexto local.

En los casos de TB pulmonar, la gran mayoría (27 pacientes, 93%) fueron diagnosticados por baciloscopia positiva, mientras que solo 2 casos (7%) requirieron métodos complementarios (cultivo o GenXpert). Por el contrario, en la TB extrapulmonar apenas 4 pacientes (33%) tuvieron baciloscopia positiva (posiblemente por compromiso pulmonar concomitante), predominando el diagnóstico por cultivo o GenXpert en 8 casos (67%). Esta asociación resultó altamente significativa (χ^2 de Pearson, $P < 0.001$), indicando que la localización de la tuberculosis influye fuertemente en el rendimiento de la baciloscopia.

En términos clínicos y epidemiológicos, este hallazgo refuerza que la tuberculosis extrapulmonar suele ser paucibacilar, dificultando su detección por baciloscopia y haciendo necesarios métodos más sensibles como el cultivo de micobacterias o pruebas moleculares (GenXpert). La TB pulmonar, en cambio, suele presentar altas cargas bacilares que facilitan la positividad del esputo directo, lo que coincide con lo observado en nuestros pacientes. Desde el punto de vista de salud pública, esto subraya la importancia de contar con técnicas de diagnóstico avanzado para TB extrapulmonar, ya que confiar solo en la baciloscopia podría dejar muchos casos sin detectar.

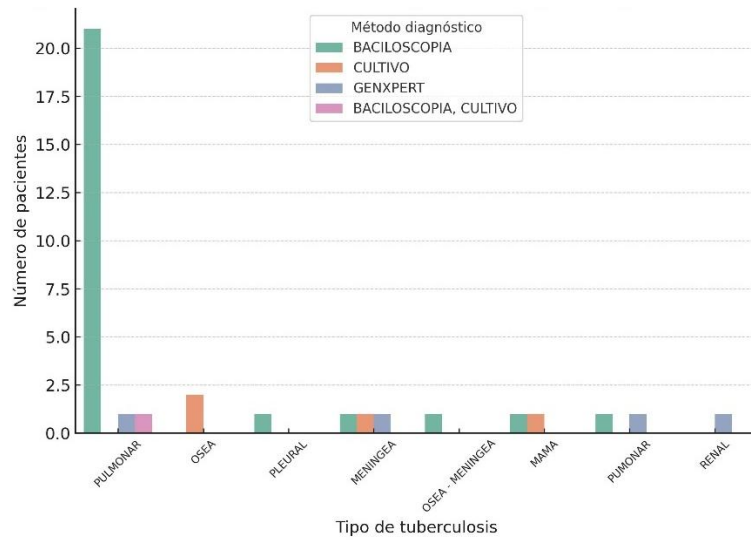


Figura 1. Distribución del método diagnóstico según el tipo de tuberculosis.

La Figura 1 muestra una marcada diferencia en la proporción de pacientes diagnosticados por baciloscopia (esputo directo) frente a cultivo/GenXpert en TB pulmonar vs. extrapulmonar.

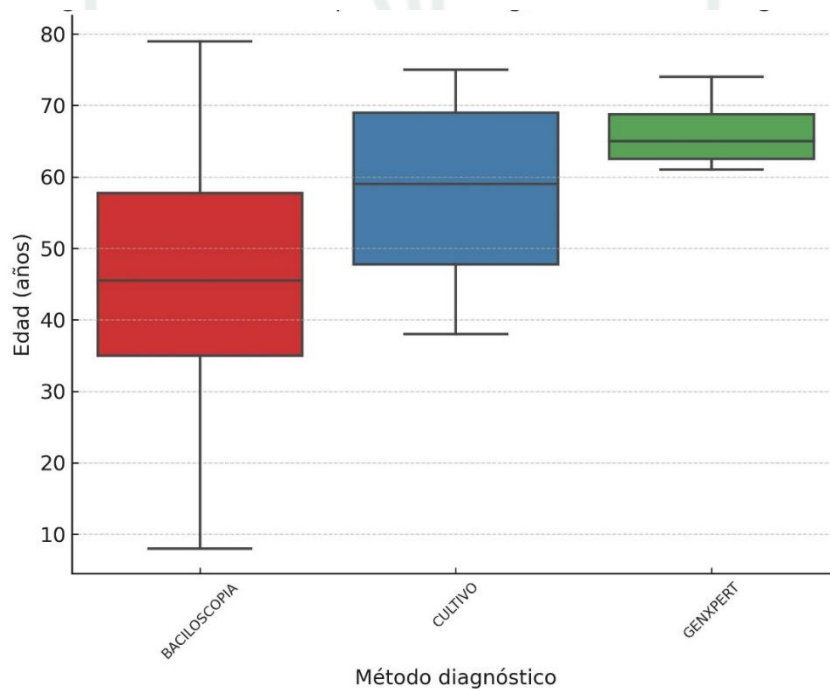


Figura 2. Distribución de la edad según el método diagnóstico de la TB pulmonar.

La Figura 2, nos muestra los pacientes diagnosticados por cultivo o GenXpert (baciloscopia negativa) tienden a ser de mayor edad (mediana de 63 años) comparados con aquellos diagnosticados por baciloscopia (mediana de 45 años). En el análisis, la edad promedio de los casos confirmados únicamente por métodos de mayor sensibilidad (sin baciloscopia positiva) fue aproximadamente 60.7 años, frente a 46.1 años en el grupo con baciloscopia positiva, diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$, prueba t de Student). En la gráfica se observa que el grupo “Cultivo/GenXpert” presenta una distribución de edades desplazada hacia adultos mayores, mientras que el grupo “Baciloscopia (+)” incluye pacientes más jóvenes e incluso un caso pediátrico.

Este hallazgo tiene implicaciones clínicas y epidemiológicas importantes. Sugiere que los pacientes de mayor edad tienden a presentar formas de TB con menor carga bacilar o manifestaciones atípicas, resultando en baciloscopías negativas y necesidad de métodos avanzados para confirmar el diagnóstico. La literatura reporta que la edad avanzada se asocia con respuestas inmunes menos eficaces y cuadros paucibacilares, lo que concuerda con nuestros resultados. Desde el punto de vista clínico, en pacientes añosos con sospecha de TB se debe mantener un alto índice de sospecha aunque la baciloscopia sea negativa, procediendo a cultivos y pruebas moleculares para evitar falsos descartes.

3.1. Validación de oligonucleótidos

Se realizó el análisis in silico de los oligonucleótidos para los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* los cuales confirmaron que cumplen con los criterios de validación establecidos, al mostrar alineamientos específicos, ausencia de dímeros significativos y generación de amplicones en las regiones esperadas. Para *NAT2*, se predijo un amplicón de 793 pb localizado dentro del ORF que contiene a los siete SNPs clínicamente relevantes ya reportados, cuya secuenciación permitiría identificar los polimorfismos necesarios para la determinación del haplotipo y el fenotipo acetilador. En el caso de *CYP2E1*, los oligonucleótidos generarían un amplicón de 412 pb, que abarca la región de unión entre el promotor y el ORF, permitiendo la detección de los dos SNPs de interés clínico. Finalmente, para *SLCO1B1*, los oligonucleótidos diseñados producirían un amplicón de aproximadamente 460 pb, en el cual se encuentran los SNPs asociados a variaciones en el transporte hepático de fármacos, cuya

secuenciación facilitaría la identificación de alelos relacionados con un metabolismo alterado y un mayor riesgo de reacciones adversas a medicamentos.

3.2 Amplificación de genes

Se realizó la amplificación de nuestros genes de interés mediante PCR de los fragmentos correspondientes bajo condiciones optimizadas para cada par de oligonucleótidos. En el caso de *NAT2*, se obtuvo un amplicón específico de 793 pb, evidenciado como una banda única, nítida y de la intensidad esperada, sin señales inespecíficas y con ausencia de amplificación en los controles negativos sin ADN molde (Figura 3). De manera similar, la amplificación de *CYP2E1* generó un producto específico de 412 pb, observado como una banda definida y única, sin amplificación en el control negativo (Figura 4), lo que confirma la especificidad de los oligonucleótidos y la ausencia de contaminación en las reacciones. Finalmente, para *SLCO1B1*, las condiciones de PCR permitieron obtener un amplicón de aproximadamente 460 pb, correspondiente a la región polimórfica de interés; la banda se visualizó de manera clara y única en el gel de electroforesis, sin amplificación en los controles sin ADN (Figura 5), lo cual respalda la validez de los oligonucleótidos diseñados y la robustez de la reacción. A continuación mostraremos los genes sonde podemos observar estos resultados:

La Figura 3, nos muestra la electroforesis en gel de agarosa al 4% que permitió confirmar la presencia de fragmentos de bajo peso molecular. Se observó una banda nítida definida en el tamaño esperado (793 pb) para cada muestra analizada (carriles del 1 al 19 son las muestras, y carril M: marcador de 100pb), sin presencia significativa de bandas inespecíficas ni arrastre. El alto porcentaje de agarosa favoreció una resolución precisa de los productos amplificados, especialmente útil para fragmentos pequeños. Los resultados fueron documentados mediante un sistema de fotodocumentación con luz ultravioleta tras la tinción con SYBERSAFE.

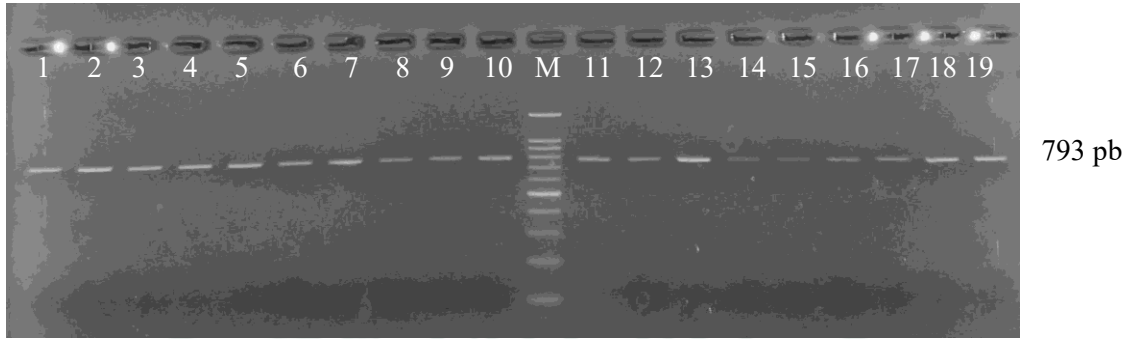


Figura 3. Electroforesis de los productos de PCR del gen *NAT2*

La Figura 4 muestra la electroforesis en gel de agarosa al 4% que nos permitió confirmar la presencia de fragmentos de bajo peso molecular. Se observó una banda nítida y definida en el tamaño esperado (412 pb) para cada muestra analizada, (carriles del 1 al 19 son las muestras, y carril M: marcador de 100pb), sin presencia significativa de bandas inespecíficas ni arrastre. El alto porcentaje de agarosa favoreció una resolución precisa de los productos amplificados, especialmente útil para fragmentos pequeños. Los resultados fueron documentados mediante fotografía.



Figura 4. Electroforesis de los productos de PCR de gen *CYP2E1*

En la Figura 5 observamos el gel de agarosa al 4% que nos permitió confirmar la presencia de fragmentos de bajo peso molecular. Se observó una banda nítida y definida en el tamaño esperado (460 pb) para cada muestra analizada (carriles del 1 al 19 son las muestras, y carril M: marcador de 100pb), sin presencia significativa de bandas inespecíficas ni arrastre. El alto porcentaje de agarosa

favoreció una resolución precisa de los productos amplificados, especialmente útil para fragmentos pequeños. Los resultados fueron documentados mediante un sistema de fotodocumentación con luz ultravioleta tras la tinción con SYBERSAFE.



Figura 5. Electroforesis de los productos de PCR del gen *SLCO1B1*

3.3 Secuencias de *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1*

Las secuencias obtenidas mediante los oligonucleótidos específicos diseñados para *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* fueron alineadas contra las secuencias de referencia correspondientes disponibles en la base de datos GenBank (NCBI), a fin de corroborar la identidad de los fragmentos amplificados. Para ello, se emplearon programas de alineamiento de secuencias tales como BLASTn y ClustalW, lo que permitió confirmar la homología con las secuencias de referencia y detectar las variantes presentes.

En las muestras analizadas encontramos diferentes polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) previamente reportados como clínicamente relevantes en cada gen. En el caso de *NAT2*, se identificaron los SNPs (Figura 6) característicos asociados a los haplotipos de acetilación rápida, intermedia o lenta. Para *CYP2E1* se verificaron variantes vinculadas con diferencias en la actividad metabólica de la enzima, mientras que en *SLCO1B1* se evaluaron polimorfismos relacionados con el transporte de fármacos a nivel hepático, los cuales en la actualidad no están reportadas para nuestra Región.

Cabe señalar que durante el proceso de secuenciamiento algunas muestras se perdieron debido a la formación de productos inespecíficos o problemas técnicos inherentes a la reacción de secuenciación. Estas limitaciones fueron documentadas y se consideraron en el análisis final de la calidad de los datos.

Adicionalmente, se establecieron criterios de exclusión basados en la integridad de los cromatogramas obtenidos y en los valores de calidad proporcionados por el software de análisis de secuencias.

De esta manera, las secuencias validadas permitieron confirmar la presencia o ausencia de los SNPs relevantes en cada gen, información que posteriormente fue empleada para la asignación de genotipos y la predicción de fenotipos metabólicos en los sujetos incluidos en el estudio.

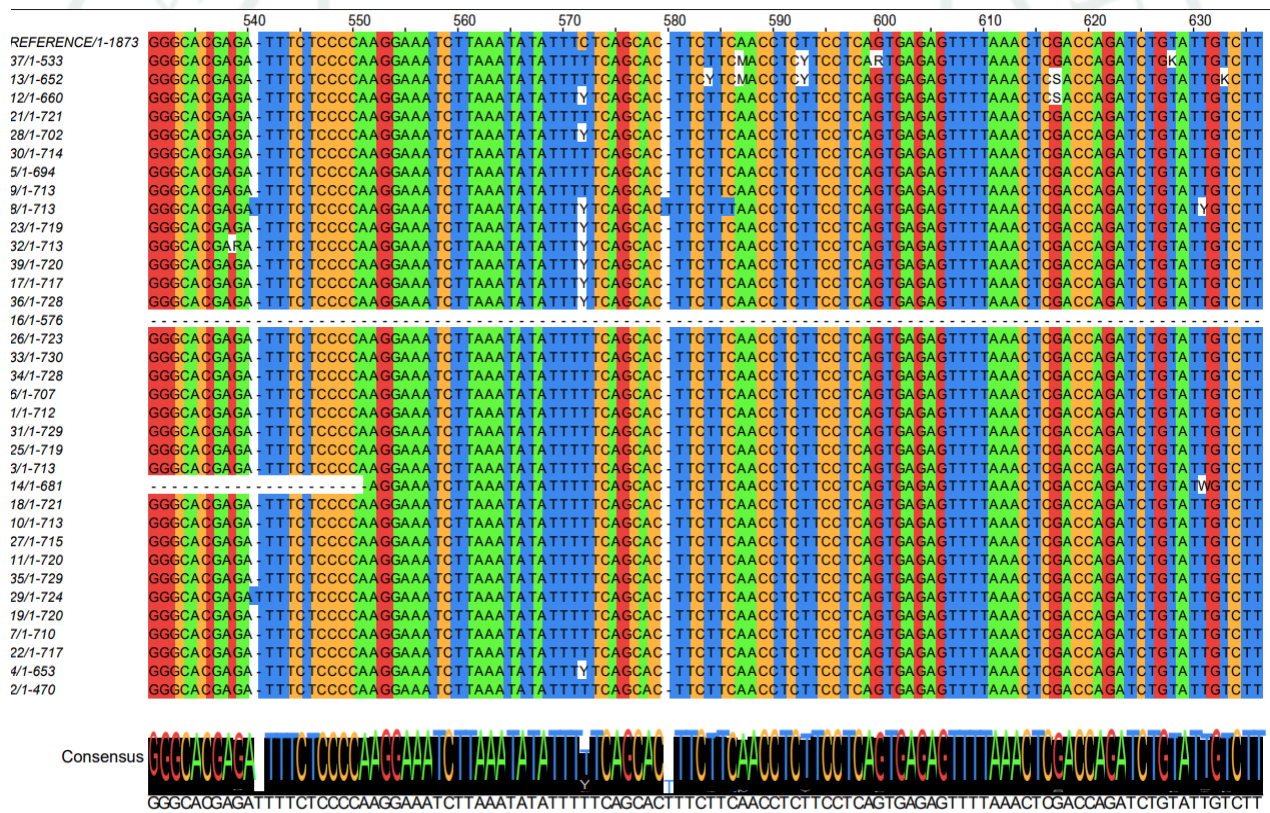


Figura 6. Alineamiento de muestras del gen *NAT2*

3.4 Distribución de polimorfismos en *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1*

El análisis de las secuencias de los amplicones correspondientes a los genes *NAT2* y *CYP2E1*, junto con la amplificación del gen *SLCO1B1* en las 40 muestras incluidas en el estudio, permitió establecer la prevalencia de haplotipos y fenotipos acetiladores (Tabla N°1), así como la frecuencia de los SNPs de *NAT2* (Figura 7) *CYP2E1* (Figura 8) y *SLCO1B1* (Figura 9).

3.5 Prevalencia de haplotipos y fenotipos

A partir de los SNPs detectados en cada muestra se determinó el fenotipo acetilador correspondiente, utilizando como referencia la tabla de alelos del gen *NAT2* en humanos (Boukouvala, 2016). El análisis reveló una elevada frecuencia de individuos con fenotipos acetiladores intermedios y lentos, perfiles metabólicos que se asocian con una mayor predisposición a desarrollar reacciones adversas durante la terapia con isoniazida (Tabla 1, Fig. 10).

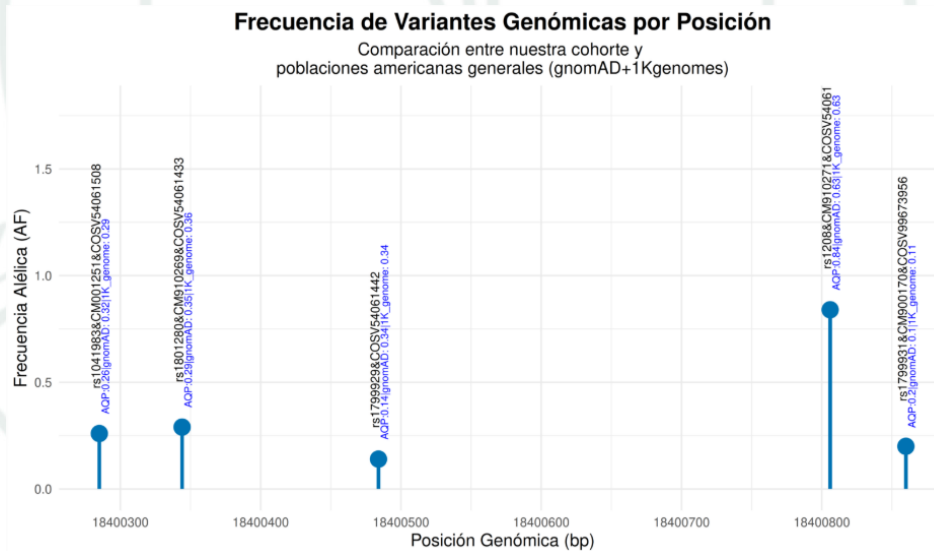


Figura 7. Frecuencia de variantes genómicas en el gen *NAT2*

El Figura 7 representa la comparación de la frecuencia alélica (AF) de variantes del gen *NAT2* identificadas en nuestra cohorte frente a las frecuencias reportadas en poblaciones americanas

generales (gnomAD + 1000 Genomas). En el eje X se muestra la posición genómica (bp) y en el eje Y la frecuencia alélica. Cada punto azul corresponde a una variante, señalando su identificación (rsID y COSV) junto con los valores de referencia poblacional. Se destaca que variantes como rs1208 y rs179931 presentan frecuencias elevadas en la cohorte analizada en comparación con las poblaciones de referencia, lo que podría reflejar particularidades genéticas relevantes para el metabolismo de fármacos asociados a *NAT2*.

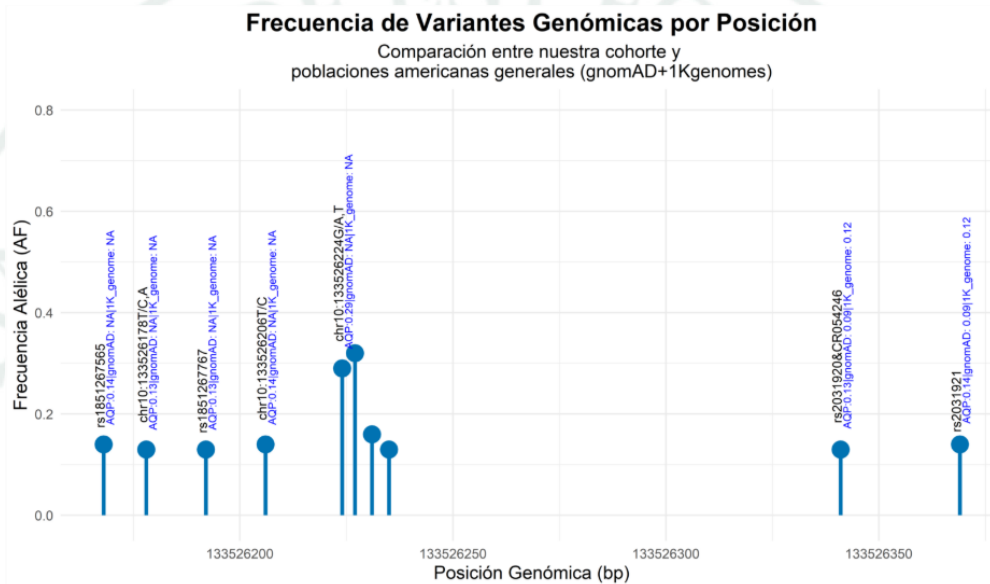


Figura 8. Frecuencia de variantes genómicas en el gen *CYP2E1*

El Figura 8 muestra la comparación de la frecuencia alélica (AF) de variantes del gen *CYP2E1* detectadas en nuestra cohorte frente a los datos de referencia de poblaciones americanas generales (gnomAD + 1000 Genomas). El eje X representa la posición genómica (bp) y el eje Y la frecuencia alélica. Cada punto corresponde a una variante identificada, indicando su ID (rsID o posición cromosómica) y la frecuencia reportada en bases de datos de referencia. Se observa que algunas variantes, como rs2031920 y rs2031921, presentan frecuencias similares a las reportadas en poblaciones generales, mientras que otras posiciones no tienen información de referencia (NA), lo cual resalta la importancia de caracterizar estas variantes en la cohorte estudiada.

Finalmente, en la Figura 9 observamos la frecuencia alélica (AF) de las variantes detectadas en el gen *SLCO1B1*, distribuidas a lo largo de su posición genómica (bp). Se evidencia una amplia variabilidad

en las frecuencias, que fluctúan desde valores cercanos a cero hasta picos superiores al 0.7–0.8. Algunas posiciones muestran una mayor representación de variantes, reflejando puntos calientes de polimorfismo dentro de este gen. En conjunto, el perfil observado sugiere una marcada heterogeneidad genética, lo que resulta consistente con la variabilidad interindividual descrita para *SLCO1B1* en poblaciones americanas.

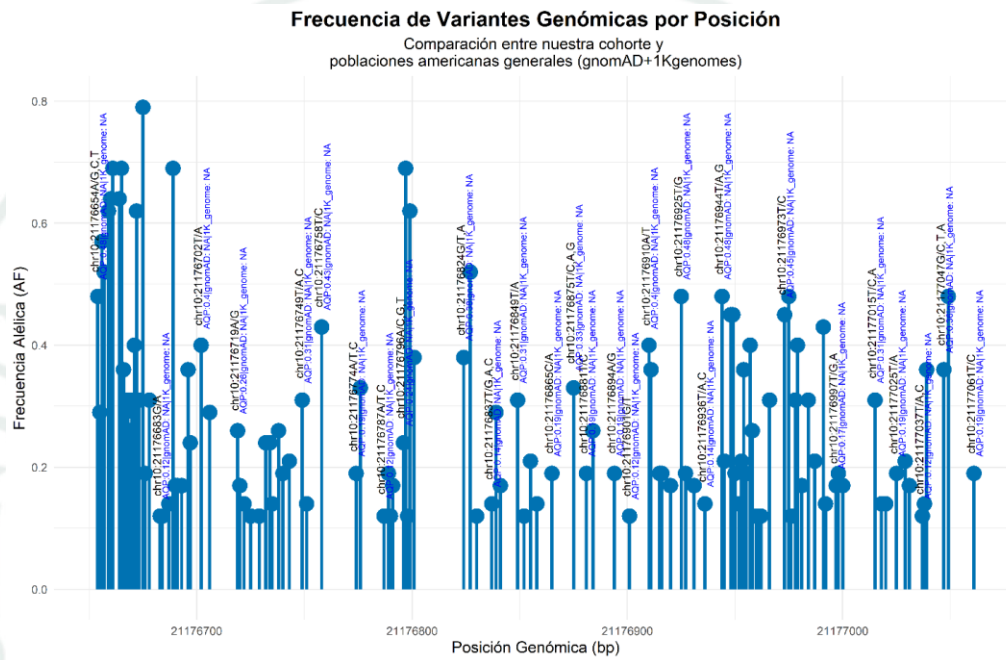


Figura 9: Frecuencia de variantes genómicas en el gen *SLCO1B1*

A continuación, se presentan las variantes genómicas identificadas en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1*, cuya caracterización resulta fundamental para comprender la diversidad genética observada en la cohorte analizada. Estos genes, estrechamente vinculados con procesos de metabolización y transporte de fármacos, mostraron diferentes frecuencias de mutaciones que se manifestaron tanto en condición homocigota como heterocigota. La distribución de dichas variantes permite establecer un panorama inicial sobre la presencia de fenotipos metabolizadores lentos, intermedios o rápidos en el caso de *NAT2*, así como alteraciones potenciales en la actividad enzimática de *CYP2E1* y en la función transportadora de *SLCO1B1*. Este abordaje comparativo, complementado con la información proveniente de bases de datos poblacionales como gnomAD y 1000 Genomes, constituye un punto de partida clave para la discusión de los resultados en torno a las posibles implicancias clínicas y farmacogenómicas de los polimorfismos detectados.

La Figura 10 muestra la distribución de variantes del gen *NAT2* con una frecuencia alélica mayor al 5% en la cohorte analizada, diferenciadas según el genotipo observado: homocigoto silvestre (WT, en azul), heterocigoto (HET, en beige) y homocigoto mutado (MT, en marrón). Se observa que la mayoría de las variantes presentan una alta proporción de individuos en condición WT, con frecuencias que superan el 85–90% en la mayoría de los casos. Sin embargo, algunas mutaciones exhiben proporciones relevantes de portadores heterocigotos, destacando aquellas en posiciones como rs1799930 y rs1799931, con frecuencias de heterocigotos en torno al 24–29%, y rs1801280, donde la frecuencia de homocigotos mutados alcanza hasta el 18%. Estos resultados reflejan la presencia de polimorfismos de importancia clínica en la población estudiada, asociados a la capacidad de acetilación y, por ende, al metabolismo diferencial de fármacos.

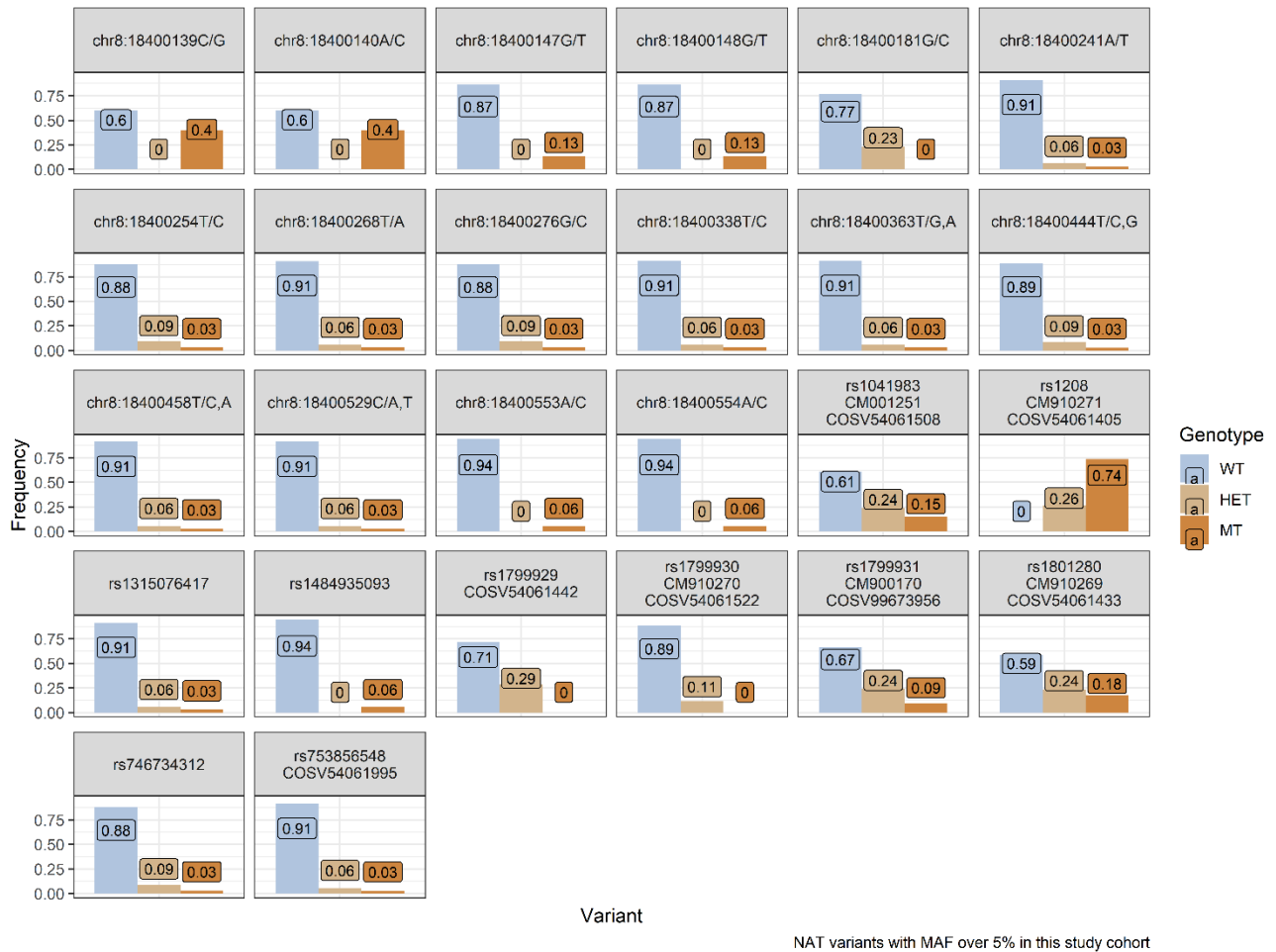
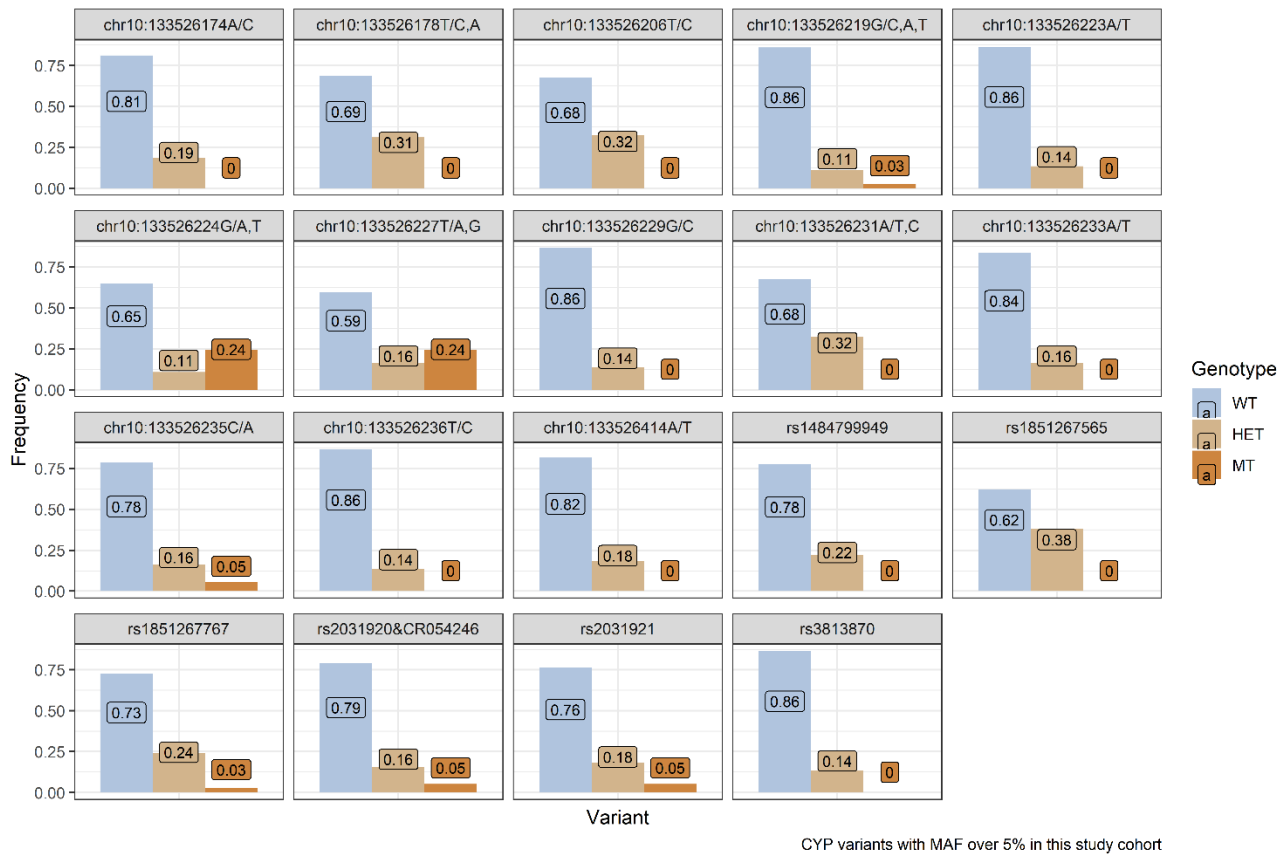


Figura 10. Distribución de variantes del gen *NAT2*



CYP variants with MAF over 5% in this study cohort

Figura 11. Distribución de variantes del gen *CYP2E1*

La Figura 11 nos presenta la distribución de frecuencias genotípicas de variantes del gen *CYP2E1* con una frecuencia alélica mayor al 5% en la cohorte de pacientes bajo tratamiento de primera línea contra la tuberculosis. En todas las variantes se observa un predominio del genotipo de referencia (WT, 0.62–0.86), seguido de proporciones intermedias de heterocigotos (HET, 0.11–0.38) y una baja o nula presencia de homocigotos mutantes (MT, 0–0.05). El gen *CYP2E1*, que codifica una enzima del citocromo P450, participa en el metabolismo de fármacos como la isoniazida y de diversos xenobióticos. Por ello, la presencia de estas variantes podría modular la actividad enzimática y contribuir a la variabilidad interindividual en la respuesta terapéutica y en la susceptibilidad a hepatotoxicidad inducida por los antituberculosos. Estos hallazgos resaltan la importancia de caracterizar el perfil genético en este tipo de pacientes para comprender mejor la relación entre polimorfismos, eficacia del tratamiento y riesgo de efectos adversos.

En cuanto a *CYP2E1*, se observó un predominio de genotipos silvestres (62–86%), con proporciones intermedias de heterocigotos (11–38%) y baja frecuencia de homocigotos mutantes. Este perfil es similar al reportado en bases de datos poblacionales (gnomAD, 1000 Genomes), aunque en nuestra cohorte algunas variantes como rs2031920 y rs2031921 mostraron frecuencias ligeramente superiores. Si bien algunos estudios como Lee SW et al. (2013) no hallaron asociación significativa entre *CYP2E1* y hepatotoxicidad, otros (Lee, 2019; Pourmohamadi, 2023) sí reportan una interacción relevante entre *NAT2* y *CYP2E1* en el riesgo de daño hepático. Esto sugiere que el efecto de *CYP2E1* podría depender del contexto genético y ambiental, así como de la interacción con otros loci metabolizadores.

Finalmente, en la Figura 12 nos presenta la distribución de frecuencias genotípicas de múltiples variantes del gen *SLCO1B1* con una frecuencia alélica mayor al 5% en la cohorte estudiada. En la mayoría de las variantes, el genotipo de referencia (WT, en azul) es predominante (frecuencias entre 0.60 y 0.80), seguido por proporciones intermedias de heterocigotos (HET, en beige) que varían entre 0.15 y 0.40, mientras que los homocigotos mutantes (MT, en naranja) muestran frecuencias generalmente bajas (0.02–0.15), aunque en algunas variantes alcanzan valores relativamente más altos.

Respecto a *SLCO1B1*, se identificó una amplia heterogeneidad genética, con predominio de WT, presencia de heterocigotos y baja proporción de homocigotos mutantes. Estas variantes son de especial interés dado que *SLCO1B1* codifica al transportador hepático *OATP1B1*, responsable de la captación de fármacos como la rifampicina incluyendo estatinas, antituberculosos y diversos xenobióticos. Las variantes presentadas en la cohorte podrían modificar la funcionalidad del transportador, generando diferencias en la biodisponibilidad, depuración hepática y riesgo de toxicidad de medicamentos metabolizados por esta vía. Nuestros resultados coinciden con la variabilidad interindividual descrita en poblaciones americanas y asiáticas (Kim et al., 2021; Yang, 2019). Sin embargo, Kim et al. (2021) no encontraron asociación directa entre polimorfismos de *SLCO1B1* y la exposición a rifampicina en pacientes coreanos, quien reclutó prospectivamente pacientes con TB pulmonar activa que estaban tomando rifampicina durante >1 semana y determinó el genotipo de 4 polimorfismos de un solo nucleótido de *SLCO1B1*, comparó la exposición entre diferentes genotipos de *SLCO1B1* y se exploró la relación entre la exposición al fármaco y los resultados clínicos, lo que indica que el impacto funcional de estas variantes podría ser poblacionalmente específico o depender de la interacción con

otros genes y factores clínicos.

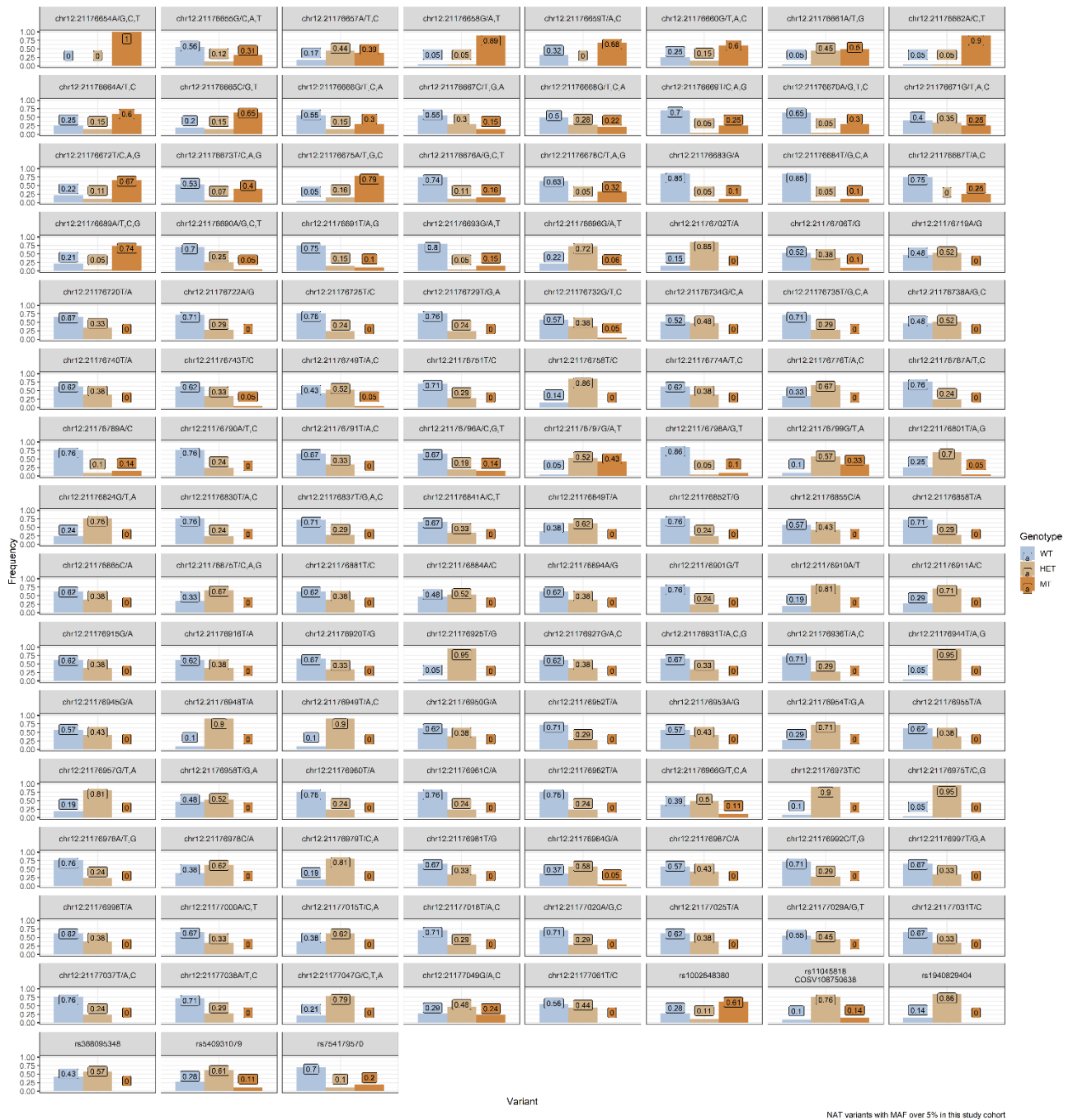


Figura 12. Distribución de variantes del gen *SLCO1B1*

La Figura 9 muestra la distribución de variantes genómicas en el gen *SLCO1B1*, evidenciando una amplia variabilidad en las frecuencias alélicas, con valores que van desde cifras cercanas a cero hasta

picos superiores al 0.7–0.8. Este patrón refleja la presencia de regiones con mayor densidad de polimorfismos, considerados como “puntos calientes” dentro del gen, lo que pone en evidencia una marcada heterogeneidad genética en la población estudiada. Estos hallazgos se alinean con lo reportado por Khan A. et al. (2022), quienes destacan que la variabilidad interindividual en genes implicados en metabolismo y transporte de fármacos antituberculosos, como *SLCO1B1*, contribuye a explicar diferencias en la respuesta terapéutica y en la aparición de reacciones adversas. De manera similar, estudios como el de Perea-Jacobo R. en pacientes mexicanos y el de Kim ES en población coreana, no hallaron asociación significativa entre polimorfismos específicos de *SLCO1B1* y la farmacocinética de la rifampicina, aunque se subraya que una mayor exposición al fármaco sí puede relacionarse con mejoría clínica radiológica. Por su parte, investigaciones más amplias como la de Sileshi T. (2024) confirman que la exposición subterapéutica a rifampicina afecta a la mayoría de pacientes, si bien el papel de *SLCO1B1* es menos determinante frente a variantes de otros genes como *ABCB1* y *AADAC*. En contraste, meta-análisis como el de Yang S. (2019) refuerzan la relevancia de polimorfismos en *NAT2*, *CYP2E1* y *GST* en la toxicidad asociada a tratamiento antituberculoso, sin evidenciar un rol significativo de *SLCO1B1*. Finalmente, análisis poblacionales como el de Goljan E. (2024), en una cohorte árabe de más de 11 mil individuos, muestran que la variabilidad de *SLCO1B1* es elevada y clínicamente relevante en el metabolismo de múltiples fármacos, aunque su impacto específico en tuberculosis sigue siendo un área de debate. En conjunto, estos datos sugieren que la heterogeneidad de *SLCO1B1* observada en nuestra población es consistente con la diversidad reportada a nivel global, pero que su efecto sobre la farmacocinética de rifampicina podría depender de interacciones con otros genes, características clínicas y factores poblacionales.

En la presente investigación se caracterizaron variantes genéticas en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1*, todos ellos involucrados en el metabolismo y transporte de fármacos antituberculosos de primera línea. Los resultados muestran una alta prevalencia de fenotipos acetiladores intermedios y lentos en *NAT2*, junto con la presencia de polimorfismos en *CYP2E1* y *SLCO1B1* que, aunque en su mayoría aparecen en heterocigosis, podrían tener implicancias clínicas relevantes.

La Tabla N°1 muestra la distribución de los genotipos del gen *NAT2* y su relación con los distintos fenotipos acetiladores en la población evaluada.

Se observa que la mayor proporción corresponde a los acetiladores intermedios, quienes representan aproximadamente dos tercios de la muestra (68.57%), lo que sugiere que esta es la condición predominante en la cohorte analizada. En contraste, los acetiladores rápidos alcanzan cerca de una quinta parte de la población (20.01%), mientras que los acetiladores lentos se presentan en menor proporción (11.42%). Esta distribución refleja un predominio de perfiles intermedios, con una representación reducida de los extremos lento y rápido, lo que concuerda con reportes previos en poblaciones latinoamericanas y resalta la heterogeneidad genética del locus *NAT2*. Esta distribución concuerda con lo reportado por Levano (2021) en pacientes peruanos y por Meitei, et al. (2021) en poblaciones de India, donde predominan los perfiles intermedios y lentos.

La relevancia clínica radica en que los acetiladores lentos presentan un mayor riesgo de hepatotoxicidad inducida por isoniazida (INH), como lo demuestran estudios previos de Peñaloza (2022) quien estudio la asociación entre la presencia de los polimorfismos C282T (Rs1041983) y G590A (Rs1799930) de *NAT2* con el desarrollo de hepatotoxicidad como causa de reacción adversa medicamentosa a isoniácida (RAM), encontró que el 32.43% del total de pacientes estudiados, presentaron hepatotoxicidad. Se determinó la frecuencia de los polimorfismos, para la variante rs1041983 la frecuencia del alelo T es de 34% y para la variante rs1799930, la frecuencia del alelo A es de un 11%. Finalmente, los análisis estadísticos, determinaron que a variante rs1041983 tiene OR de riesgo de 7,50 para modelo de herencia dominante, a la vez Lee (2019) demostró una relación significativa entre los genes *NAT2* y *CYP2E1* con el desarrollo de reacciones adversas medicamentosas como la toxicidad hepática, reclutó pacientes con tratamiento de rifampicina e isoniácida para analizar los SNPs presentes en los genes *NAT2*, *CYP2E1*, en sus resultados encontraron que las mutaciones presentes en el 10% de los pacientes se asociaban al desarrollo de reacciones sistémicas a la droga. Igualmente, los SNPs relacionados fueron *NAT2* rs1041983 y *CYP2E1* rs2070673, en nuestro estudio se encontró otros polimorfismos rs1851267565, rs1851267767, rs2031920 y rs2031921. Pourmohamadi (2023) confirma que este fenotipo está fuertemente asociado a reacciones adversas. Nuestros hallazgos fueron los polimorfismos encontrados fueron rs1041983, rs1801280, rs1799929, rs1208 y rs1799931, por tanto, refuerzan la necesidad de considerar el genotipo *NAT2* como un marcador predictivo en el manejo de la TB, especialmente para monitorear a los pacientes en riesgo

de hepatotoxicidad.a nuestro estudio.

Tabla N° 1: Frecuencia de los fenotipos acetiladores según genotipos de NAT2 en la cohorte estudiada

N°	NOMBRE	GENOTIPO		N°	SUBTOTAL	FENOTIPO ACETILADOR	
		MUTACION				GRADO	PORCENTAJE
1	NAT2*5D/NAT2*5D	341T>C (rs1801280)		1	2.86%	LENTO	
2	NAT2*7A /NAT2*7A	857G>A (rs1799931)		1	2.86%	LENTO	
3	NAT2*7B /NAT2*7B	282C>T (rs1041983) 857G>A (rs1799931)		1	2.86%	LENTO	11.42%
4	NAT2*7C /NAT2*7C	282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208) 857G>A (rs1799931)		1	2.86%	LENTO	
5	NAT2*5A /NAT2*4	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929)		4	11.43%	INTERMEDIO	
6	NAT2*5B /NAT2*4	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)		2	5.71%	INTERMEDIO	
7	NAT2*5C/NAT2*4	341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208)		2	5.71%	INTERMEDIO	
8	NAT2*5D/NAT2*4	341T>C (rs1801280)		2	5.71%	INTERMEDIO	
9	NAT2*5T /NAT2*4	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208)		1	2.86%	INTERMEDIO	
10	NAT2*7A /NAT2*4	857G>A (rs1799931)		1	2.86%	INTERMEDIO	68.57%
11	NAT2*7B /NAT2*4	282C>T (rs1041983) 857G>A (rs1799931)		1	2.86%	INTERMEDIO	
12	NAT2*7C /NAT2*4	282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208) 857G>A (rs1799931)		1	2.86%	INTERMEDIO	
13	NAT2*11A /NAT2*4	481C>T (rs1799929)		2	5.71%	INTERMEDIO	
14	NAT2*12A /NAT2*4	803A>G (rs1208)		2	5.71%	INTERMEDIO	
15	NAT2*12B /NAT2*4	282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208)		2	5.71%	INTERMEDIO	
16	NAT2*12C /NAT2*4	481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)		2	5.71%	INTERMEDIO	
17	NAT2*13A /NAT2*4	282C>T (rs1041983)		2	5.71%	INTERMEDIO	
18	NAT2*12A/NAT2*12A	803A>G (rs1208)		5	14.29%	RAPIDO	
19	NAT2*12B /NAT2*12B	282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208)		1	2.86%	RAPIDO	20.01%
20	NAT2*13A /NAT2*13A	282C>T (rs1041983)		1	2.86%	RAPIDO	
TOTAL				35	100%		100.00%

En conjunto, los resultados obtenidos refuerzan la evidencia de que los fenotipos acetiladores intermedios y lentos de *NAT2* son los principales determinantes del riesgo de hepatotoxicidad por isoniazida, mientras que las variantes de *CYP2E1* y *SLCO1B1* parecen contribuir a la variabilidad interindividual en la farmacocinética más que actuar como factores independientes de riesgo. La comparación con estudios previos confirma que las frecuencias observadas en nuestra cohorte son consistentes con lo descrito en poblaciones latinoamericanas, aunque con algunas particularidades locales que justifican la caracterización genética en grupos específicos. Finalmente, estos hallazgos respaldan la importancia de implementar la farmacogenómica en el tratamiento de la tuberculosis, ya que el conocimiento del perfil genético de los pacientes podría permitir optimizar la dosis de isoniazida y rifampicina, prevenir eventos adversos y mejorar la adherencia terapéutica.



Figura 13. Distribución de fenotipos acetiladores

El gráfico muestra la frecuencia relativa de los fenotipos acetiladores identificados en la población analizada. Se observa que el fenotipo intermedio fue el más prevalente, con un 69%, seguido por el fenotipo rápido con 20% y, en menor proporción, el fenotipo lento con 11%. Estos resultados

evidencian que la mayoría de los sujetos presentan una capacidad de acetilación intermedia, lo cual podría tener implicancias en la respuesta metabólica y la toxicidad frente a fármacos procesados por la enzima *NAT2*.

Tabla 2. Asociación entre fenotipo *NAT2* y tipo de tuberculosis

Fenotipo <i>NAT2</i>	Pulmonar	Pleural	Meníngea	Ósea	Ósea-meníngea	Mamaria	Renal
Intermedio	15	1	2	2	1	1	1
Lento	3	0	1	0	0	0	0
Rápido	7	0	0	0	0	1	0
Total	25	1	3	0	1	2	1

Durante el análisis estadístico se aplicó la prueba de chi-cuadrado de independencia sobre la tabla de contingencia que relaciona el fenotipo de acetilación *NAT2* (rápido, intermedio y lento) con el tipo de tuberculosis (pulmonar y extrapulmonar en sus distintas formas). El objetivo de esta prueba fue determinar si existía dependencia entre ambas variables. El estadístico calculado fue $\chi^2 = 5,92$ con 12 grados de libertad, obteniéndose un valor de $P = 0,92$.

estos resultados indican que los fenotipos de acetilación *NAT2* se distribuyen de manera similar entre los distintos tipos de tuberculosis clínica, sin que se observe un patrón de asociación. Esto es coherente con la función biológica de *NAT2*, cuya variabilidad genética se relaciona directamente con la velocidad de metabolización de la isoniazida y, por ende, con la eficacia y seguridad del tratamiento farmacológico, pero no interviene en los mecanismos patogénicos que determinan la localización anatómica de la infección. En consecuencia, la genotipificación de *NAT2* tiene valor clínico en la personalización terapéutica y la prevención de hepatotoxicidad, pero no constituye un predictor de la forma clínica de tuberculosis que desarrollará el paciente.

CONCLUSIONES

1. Se logró evaluar las variantes genéticas en los genes *NAT2*, *CYP2E1* y *SLCO1B1* en pacientes con tuberculosis del sur del Perú tratados con fármacos de primera línea (rifampicina e isoniazida). Los hallazgos obtenidos evidencian una alta variabilidad genética en los tres genes estudiados, con implicancias directas en el metabolismo de los antituberculosos y en la susceptibilidad a reacciones adversas, en concordancia con lo reportado en la literatura científica internacional.
2. Se identificó polimorfismos de relevancia clínica en los tres genes analizados. En *NAT2* se detectaron variantes como rs1799929, rs1799931, rs1041983, rs1208 y rs1801280, asociadas a fenotipos acetiladores lentos, intermedios y rápidos. En *CYP2E1* se confirmaron variantes como rs2031920, rs1851267565, rs1851267767 y rs2031921, mientras que en *SLCO1B1* se evidenció un perfil polimórfico heterogéneo con frecuencias variables que alcanzaron hasta 0.8 en algunas posiciones, lo que sugiere la presencia de puntos calientes de variación genética en la cohorte analizada.
3. Se determinó las frecuencias, en *NAT2* predominó el fenotipo acetilador intermedio (69%), seguido de rápido (20%) y lento (11%). En *CYP2E1*, el genotipo silvestre (WT) presentó frecuencias entre 62–86%, mientras que los heterocigotos alcanzaron entre 11–38% y los homocigotos mutantes solo 0–5%. En *SLCO1B1*, los genotipos WT variaron entre 60–80%, los heterocigotos entre 15–40% y los mutantes homocigotos entre 2–15%. Estas distribuciones reflejan que, aunque los alelos de referencia son predominantes, existe una proporción relevante de variantes que podrían tener impacto en la farmacocinética y farmacodinamia de los tratamientos antituberculosos.

RECOMENDACIONES

1. Dado que el 69% de los pacientes presentó fenotipo intermedio y el 11% acetilador lento, se recomienda establecer un monitoreo rutinario de función hepática en estos grupos durante el tratamiento con isoniazida, ya que tienen mayor riesgo de hepatotoxicidad.
2. Aunque la mayoría de los pacientes presentó genotipo silvestre (62–86%), la existencia de un grupo minoritario con variantes mutantes (hasta 5%) implica que este gen debe ser considerado en análisis combinados con NAT2, ya que la interacción de ambos podría aumentar la toxicidad. Se recomienda realizar estudios funcionales adicionales que permitan confirmar esta asociación en la población peruana.
3. Ampliar el tamaño muestral y extender el estudio a otras regiones del Perú para confirmar la representatividad de los resultados. Además, se recomienda incluir otros genes relevantes en el metabolismo de fármacos antituberculosos (por ejemplo, GST, ABCB1, CES2) con el fin de construir un perfil farmacogenético integral en la población peruana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Al-Koofee D, Mubarak S. Genetic polymorphisms. In: *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*. 2019. p. 1–10.
2. Bao Y, Ma X, Rasmussen TP, Zhong X. Genetic variations associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury. *Curr Pharmacol Rep*. 2018;4(3):171–181. doi:10.1007/s40495-018-0131-8.
3. Beltrán Cajusol RC, Morán Llanos LD. Susceptibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* aislado de pacientes con tuberculosis pulmonar antes tratados. Chiclayo; 2016–2020.
4. World Health Organization. Tuberculosis [Internet]. WHO; 2025 May 15 [cited 2025 May 15]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
5. Briones JAM, Romero AEB. Resistencia de isoniazida y rifampicina frente a otros antimicrobianos en pacientes adultos con tuberculosis. *Rev Cient Curation*. 2021;4(2):1.
6. Motta I, Calcagno A, Bonora S. Pharmacokinetics and pharmacogenetics of anti-tubercular drugs: a tool for treatment optimization? *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2018;14:59–82. doi:10.1080/17425255.2018.1416093.
7. Richardson M, Kirkham J, Dwan K, Sloan D, Davies G, Jorgensen AL. NAT2 genetic variants and toxicity related to anti-tubercular agents: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(4):e026054. doi:10.1136/bmjopen-2018-026054.
8. Richardson M, Kirkham J, Dwan K, Sloan DJ, Davies G, Jorgensen AL. NAT2 variants and toxicity related to anti-tuberculosis agents: a systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019;23(3):293–305. doi:10.5588/ijtld.18.0324.
9. Lévano KS, Jaramillo-Valverde L, Tarazona DD, Sanchez C, Capristano S, Vásquez-Loarte T, et al. Allelic and genotypic frequencies of NAT2, CYP2E1 and AADAC genes in Peruvian tuberculosis patients. *Mol Genet Genomic Med*. 2021;9(10):e1764. doi:10.1002/mgg3.1764.
10. Chaves RM, Gómez AR, Solano SV. Tuberculosis resistente a fármacos. 2023.
11. González Díaz LF, Malatesta Hernández AT. Isoniacida/rifampicina en tratamiento de tuberculosis latente: revisión sistemática. 2022.
12. Jaramillo KMP, Martínez RM, Torres REO. Tuberculosis resistente a rifampicina e isoniazida en la subregión andina de las Américas. *Bol Malariol Salud Ambient*. 2021;61:129.
13. Jaramillo-Valverde KS, Tarazona DD, Sanchez C, Capristano S, Vásquez-Loarte T, Solari L,

- et al. Allelic and genotypic frequencies of NAT2, CYP2E1 and AADAC genes in Peruvian tuberculosis patients. *Mol Genet Genomic Med*. 2021;9(10):e1764. doi:10.1002/mgg3.1764.
14. Bustamante Paredes RA, Quintero Montaña H. Resistencia a rifampicina en tuberculosis pulmonar y su relación con mala adherencia. *Rev Cient Multidiscip Pentaciencias*. 2022;4(5):172–193.
 15. Lemus Molina D, Echemendía Font M, Díaz Rodríguez R, Rodríguez Estévez D, Martínez Rodríguez A, Suárez Álvarez L, et al. Resistencia a fármacos antituberculosos en Cuba, 2015–2017. *Rev Cub Med Trop*. 2021;73(1).
 16. Guio H, Lévano KS, Sánchez C, Tarazona D. Rol de la farmacogenómica en el tratamiento de tuberculosis. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2015;32(4):794–800.
 17. Santos-Lazaro D, Puyen ZM, Gavilan RG. Estructura genética de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* farmacorresistentes en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2021;38:577–586.
 18. Vargas-Ponce KG, et al. Mutaciones genéticas que confieren resistencia a isoniacida en pacientes con tuberculosis. *Acta Med Peru*. 2021;38(2):151–153. doi:10.35663/amp.2021.382.1892.
 19. Gamboa-Hernández NG, Reyes-Ruvalcaba D, Ángel-Chávez LI, et al. Actualización en el tratamiento de tuberculosis multirresistente. *Med Interna Mex*. 2023;39(3):482–494.
 20. Deng Y, Luo X, Li X, Xiao Y, Xu B, Tong H. Screening of biomarkers of rifampicin-induced liver injury. *Front Pharmacol*. 2022;13:925509.
 21. Combrink M, du Preez I. Metabolomics describes toxicity mechanisms of isoniazid and rifampicin. *Toxicol Lett*. 2020;322:104–110.
 22. Peña C, Escobar N. Tuberculosis con resistencia a rifampicina en Chile. *Rev Chil Enferm Respir*. 2021;37(1):74–81.
 23. Su Q, Liu Q, Liu J, et al. Associations between liver damage and rifampicin-related gene polymorphisms. *Bioengineered*. 2021;12(2):11700–11708.
 24. Mukonzo JK, Kengo A, Kutesa B, et al. Role of pharmacogenetics in rifampicin pharmacokinetics. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2020;114(2):107–114.
 25. Murillo AJP, Aguirre OLT, López FS. Curvas de fusión de alta resolución para resistencia a rifampicina. *Microciencia*. 2021;10:9–18.
 26. Dorman SE, Nahid P, Kurbatova EV, et al. El largo camino de la rifapentina hasta llegar a los pacientes. 2022.

27. Ibrahim MM, Isyaka TM, Askira UM, et al. Rifampicin-resistant tuberculosis trends. *Sci Afr*. 2022;17:e01341.
28. Peñaloza PA. Asociación de polimorfismos NAT2 con daño hepático por isoniazida. 2020.
29. Lee MR, Huang HL, Lin SW, et al. NAT2 genotype predicts drug reactions. *J Clin Med*. 2019;8(6):812.
30. Naidoo A, Chirehwa M, Ramsuran V, et al. Genetic variability and pharmacokinetics. *Pharmacogenomics*. 2019;20(4):225–240.
31. Dompheh A, Tang X, Zhou J, Yang H, Topletz A, Adu Ahwireng E, et al. Effect of genetic variation of NAT2 on isoniazid and SLCO1B1 and CES2 on rifampin pharmacokinetics in Ghanaian children with tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(3):e02099-17. doi:10.1128/AAC.02099-17.
32. Khan A, Abbas M, Verma S, Verma S, Abbas A, Fareya R, et al. Genetic variants and drug efficacy in tuberculosis: a step toward personalized therapy. *Glob Med Genet*. 2022;9(2). doi:10.1055/s-0042-1743567.
33. Wang L, Ying R, Liu Y, Sun Q, Sha W. Metabolic profiles of drug-susceptible and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Drug Resist*. 2023;16:2667–2680.
34. Borlak J, Reamon-Buettner SM. NAT2 gene polymorphisms in colon and lung cancer patients. *BMC Med Genet*. 2006;7:58. doi:10.1186/1471-2350-7-58.
35. Zhang M, Wang S, Wilffert B, Tong R, van Soolingen D, van den Hof S, et al. NAT2 polymorphisms and risk of drug-induced liver injury during anti-TB treatment. *Br J Clin Pharmacol*. 2018. doi:10.1111/bcp.13722.
36. Brancatella A, Cappellani D, Kaufmann M, Semeraro A, Borsari S, Sardella C, et al. Long-term efficacy and safety of rifampin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(8):e3159–e3166.
37. Sotsuka T, Sasaki Y, Hirai S, Yamagishi F, Ueno K. Isoniazid-metabolizing enzyme genotypes and hepatotoxicity. *In Vivo*. 2011;25(5):803–812.
38. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. Boletín epidemiológico 2023 [Internet]. Available from: <https://www.dge.gob.pe>
39. Azuma J, Ohno M, Kubota R, Yokota S, Nagai T, Tsuyuguchi K, et al. NAT2 genotype-guided therapy reduces hepatotoxicity. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69(5):1091–1101.
40. Surarak T, Chumnumwat S, Nosoongnoen W, Tragulpiankit P. Isoniazid efficacy and NAT2 polymorphisms. *Clin Transl Sci*. 2024;17(4):e13795.

41. Sileshi T, Telele NF, Burkley V, Makonnen E, Aklillu E. Correlation of NAT2 genotype and acetylation status with plasma isoniazid concentration. 2023.
42. Sileshi T, Makonnen E, Telele NF, Barclay V, Zumla A, Aklillu E. Variability in rifampicin concentrations and genetic factors. *Infect Dis (Lond)*. 2024;56(4):308–319. doi:10.1080/23744235.2024.2309348.
43. Gurnani A, Chawla R, Kundra P, Bhattacharya A. Acute isoniazid poisoning. *Anaesthesia*. 1992;47(9):781–783.
44. Wang P, Pradhan K, Zhong XB, Ma X. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta Pharm Sin B*. 2016;6(5):384–392.
45. Klein DJ, Boukouvala S, McDonagh EM, Shuldiner SR, Laurieri N, Thorn CF, et al. PharmGKB summary: isoniazid pathway. *Pharmacogenet Genomics*. 2016;26(9):436–444.
46. Gong J, Tu W, Liu J, Tian D. Hepatocytes and liver inflammation. *Front Immunol*. 2023;13:1083780.
47. Figueiredo Teixeira RL, Pires Lopes MQ, Noel P, Rezende A. Tuberculosis pharmacogenetics: state of the art. In: Mahboub B, editor. *Tuberculosis - Current Issues in Diagnosis and Management*. InTech; 2013.
48. Metushi I, Uetrecht J, Phillips E. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity. *Br J Clin Pharmacol*. 2016;81(6):1030–1036.
49. Metushi IG, Sanders C, Lee WM, Uetrecht J. Detection of anti-isoniazid antibodies. *Hepatology*. 2014;59(3):1084–1093.
50. Yang S, Hwang SJ, Park JY, Chung EK, Lee JI. Genetic polymorphisms and anti-TB drug-induced liver injury. *BMJ Open*. 2019;9(8):e027940.
51. Oshiro C, Mangravite LM, Klein T, Altman R. SLCO1B1 pharmacogene. *Pharmacogenomics*. 2010;20:211–216.
52. Lee HH, Ho RH. Variability in drug disposition and SLCO1B1 polymorphisms. *Br J Clin Pharmacol*. 2017;83:1176–1184.
53. Prado Y, Saavedra N, Zambrano T, Lagos J, Rosales A, Salazar L. SLCO1B1 polymorphism and atorvastatin response. *Int J Mol Sci*. 2015;16:20609–20619.
54. Kim ES, Kwon BS, Park JS, Chung J, Seo SH, Park KU, et al. SLCO1B1 polymorphism and rifampicin exposure. *Br J Clin Pharmacol*. 2021;87(9):3492–3500.
55. Cho HJ, Koh WJ, Ryu YJ, Ki CS, Nam MH, Kim JW, et al. NAT2 and CYP2E1

- polymorphisms in hepatotoxicity. *Tuberculosis (Edinb)*. 2007;87(6):551–556.
56. Mukonzo JK, Kengo A, Kutesa B, Nanzigu S, Pohanka A, McHugh TD, et al. Pharmacogenetics and rifampicin sensitivity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2019;114:107–114.
 57. Thomas L, Sekhar Miraj S, Surulivelrajan M, Varma M, Sanju CSV, Rao M. SNPs and rifampin pharmacokinetics. *Antibiotics*. 2020;9:307. doi:10.3390/antibiotics9060307.
 58. Camacho-Silvas L, Portillo-Gallo JH, Rivera-Cisneros AE, Sánchez-González JM, Franco-Santillán R, Duque-Rodríguez J, et al. Multirresistencia bacteriana en México. *Cir Cir*. 2021;89(4).
 59. Pourmohamadi N, Pour Abdollah Toutkaboni M, Hayati Roodbari N, Tabarsi P, Baniyasi S. CYP2E1 y NAT2 en hepatotoxicidad por TB. *Iran J Med Sci*. 2023;48(5):474–483.
 60. Meitei HN, Pandey A, Faruquee HM, Thokchom M, Athokpam S, Guha H, et al. Polymorphisms in TB patients. *medRxiv*. 2021. doi:10.1101/2021.06.09.21258600.
 61. Yadav D, Kumar R, Dixit RK, et al. NAT2 polymorphism and hepatotoxicity. *Cureus*. 2019;11(4):e4425. doi:10.7759/cureus.4425.
 62. Masubuchi Y, Miyauchi K. CYP2E1 inhibition by isoniazid. *Chem Biol Interact*. 2024;400:111160.
 63. Perea-Jacobo R, Muñiz-Salazar R, Laniado-Laborín R, Zenteno-Cuevas R, Cabello-Pasini A, Ochoa-Terán A, et al. SLCO1B1 polymorphism and rifampin concentrations. *Tuberculosis (Edinb)*. 2022;136:102248.
 64. Kim ES, Kwon BS, Park JS, Chung JY, Seo SH, Park KU, et al. Genetic polymorphism and rifampicin outcomes. *Br J Clin Pharmacol*. 2021;87(9):3492–3500.
 65. Goljan E, Abouelhoda M, Tahir A, ElKalioby M, Meyer B, Monies D. SLCO1B1 variants in Saudi population. *Hum Genomics*. 2024;18(1):30..

ANEXOS

1. Alelos humanos de *NAT 2* según Boukouvala 2016

Alelo de <i>NAT2</i>, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
<i>NAT2*4</i>	Alelo de referencia	Rápido
<i>NAT2*5^a</i>	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929)	Lento
<i>NAT2*5B</i>	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5C</i>	341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5D</i>	341T>C (rs1801280)	Lento
<i>NAT2*5E</i>	341T>C (rs1801280) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*5F</i>	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 759C>T (rs56011192) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5G</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5H</i>	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208) Δ ⁸⁵⁹	Lento
<i>NAT2*5I</i>	341T>C (rs1801280) 411A>T (rs4986997) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5J</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*5K</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280)	Lento
<i>NAT2*5KA</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*5L</i>	70T>A (rs45477599) 341T>C (rs1801280)	Lento

Alelo de NAT2, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
	481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	
<i>NAT2*5M</i>	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208) 838G>A (rs56393504)	Lento
<i>NAT2*5N</i>	341T>C (rs1801280) 472A>C (rs139351995) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5O</i>	203G>A (rs72466458) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5P</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 578C>T (rs79050330) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5Q</i>	341T>C (rs1801280) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5R</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5S</i>	341T>C (rs1801280) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*5T</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5TA</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*5U</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5V</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929)	Lento

Alelo de NAT2, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
<i>NAT2*5VA</i>	282C>T (rs1041983) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*5W</i>	341T>C (rs1801280) 354T>C (rs146405047) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5X</i>	341T>C (rs1801280) 403C>G (rs12720065) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5Y</i>	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 622T>C (rs56387565) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*5Z</i>	191G>A (rs1801279) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929)	Lento
<i>NAT2*6A</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6B</i>	590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6C</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*6D</i>	111T>C (rs72554615) 282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6E</i>	481C>T (rs1799929) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6F</i>	590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*6G</i>	282C>T (rs1041983) 518A>G 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6H</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 766A>G (rs55700793)	Lento
<i>NAT2*6I</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 838G>A (rs56393504) 857G>A (rs1799931)	Lento

Alelo de NAT2, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
<i>NAT2*6J</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*6K</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 638C>T (rs138707146)	Lento
<i>NAT2*6L</i>	282C>T (rs1041983) 345C>T (rs45532639) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6M</i>	152G>T (rs72466457) 282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6N</i>	282C>T (rs1041983) 481C>T (rs1799929) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6O</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 838G>A (rs56393504)	Lento
<i>NAT2*6P</i>	403C>G (rs12720065) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6Q</i>	282C>T (rs1041983) 308C>T 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*6R</i>	282C>T (rs1041983) 481C>T (rs1799929) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*6S</i>	590G>A (rs1799930) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*6T</i>	481C>T (rs1799929) 590G>A (rs1799930) 857G>A (rs1799931)	Lento
<i>NAT2*6U</i>	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 579G>T (rs144176822)	Lento
<i>NAT2*6V</i>	403C>G (rs12720065) 590G>A (rs1799930) 838G>A (rs56393504)	Lento
<i>NAT2*7A</i>	857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*7B</i>	282C>T (rs1041983) 857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?

Alelo de NAT2, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
<i>NAT2*7C</i>	282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208) 857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*7D</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983) 857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*7E</i>	282C>T (rs1041983) 481C>T (rs1799929) 857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*7F</i>	282C>T (rs1041983) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208) 857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*7G</i>	226T>G 282C>T (rs1041983) 857G>A (rs1799931)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*10</i>	499G>A (rs72554617)	Lento; sustrato-dependiente?
<i>NAT2*11A</i>	481C>T (rs1799929)	Rápido
<i>NAT2*11B</i>	481C>T (rs1799929) Δ ⁸⁵⁹	Rápido
<i>NAT2*12A</i>	803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12B</i>	282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12C</i>	481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12D</i>	364G>A (rs4986996) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12E</i>	282C>T (rs1041983) 578C>T (rs79050330) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12F</i>	622T>C (rs56387565) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12G</i>	609G>T (rs45618543) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12H</i>	403C>G (rs12720065) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12I</i>	228C>T (rs72466459) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12J</i>	29T>C (rs72466456) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12K</i>	472A>C (rs139351995) 803A>G (rs1208)	Rápido

Alelo de NAT2, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
<i>NAT2*12L</i>	665T>G 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12M</i>	282C>T (rs1041983) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12N</i>	121A>T (rs149283608) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12</i>	29T>C (rs72466456) 609G>T (rs45618543) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*12P</i>	472A>C (rs139351995) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Rápido
<i>NAT2*13A</i>	282C>T (rs1041983)	Rápido
<i>NAT2*13B</i>	282C>T (rs1041983) 578C>T (rs79050330)	Rápido
<i>NAT2*13C</i>	282C>T (rs1041983) 665T>G	Rápido
<i>NAT2*13D</i>	282C>T (rs1041983) 766A>G (rs55700793)	Rápido
<i>NAT2*13E</i>	282C>T (rs1041983) 641C>T	Rápido
<i>NAT2*13F</i>	282C>T (rs1041983) 838G>A (rs56393504)	Rápido
<i>NAT2*13G</i>	282C>T (rs1041983) 472A>C (rs139351995)	Rápido
<i>NAT2*14A</i>	191G>A (rs1801279)	Lento
<i>NAT2*14B</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983)	Lento
<i>NAT2*14C</i>	191G>A (rs1801279) 341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*14D</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930)	Lento
<i>NAT2*14E</i>	191G>A (rs1801279) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*14F</i>	191G>A (rs1801279) 341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*14G</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983) 803A>G (rs1208)	Lento

Alelo de NAT2, haplotipo	Cambio de nucleótido (identificador)	Fenotipo acetilador
<i>NAT2*14H</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983) 683C>T (rs45518335)	Lento
<i>NAT2*14I</i>	191G>A (rs1801279) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	Lento
<i>NAT2*14J</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983) 633G>A	Lento
<i>NAT2*14K</i>	191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983) 838G>A (rs56393504)	Lento
<i>NAT2*14L</i>	7A>G (rs200893121) 191G>A (rs1801279) 282C>T (rs1041983)	Lento
<i>NAT2*17</i>	434A>C (rs72554616)	Lento
<i>NAT2*18</i>	845A>C (rs56054745)	Rápido
<i>NAT2*19</i>	190C>T (rs1805158)	Lento
<i>NAT2*20</i>	600A>G (rs72466461)	?
<i>NAT2*21</i>	458C>T (rs72466460)	?
<i>NAT2*22</i>	609G>T (rs45618543)	?
<i>NAT2*23</i>	70T>A (rs45477599)	?
<i>NAT2*24</i>	403C>G (rs12720065)	?
<i>NAT2*25</i>	665T>G	?
<i>NAT2*26</i>	809T>C	?
<i>NAT2*27</i>	589C>T	?



ALINEAMIENTO GEN NAT2

REFERENCE/1-1873
 37/1-533
 13/1-652
 12/1-660
 2/1/1-721
 28/1-702
 30/1-714
 5/1-694
 9/1-713
 8/1-713
 23/1-719
 32/1-713
 39/1-720
 17/1-717
 36/1-728
 16/1-576
 26/1-723
 33/1-730
 34/1-728
 6/1-707
 1/1-712
 31/1-729
 25/1-719
 3/1-713
 14/1-681
 18/1-721
 10/1-713
 27/1-715
 11/1-720
 35/1-729
 29/1-724
 19/1-720
 7/1-710
 22/1-717
 4/1-653
 2/1-470

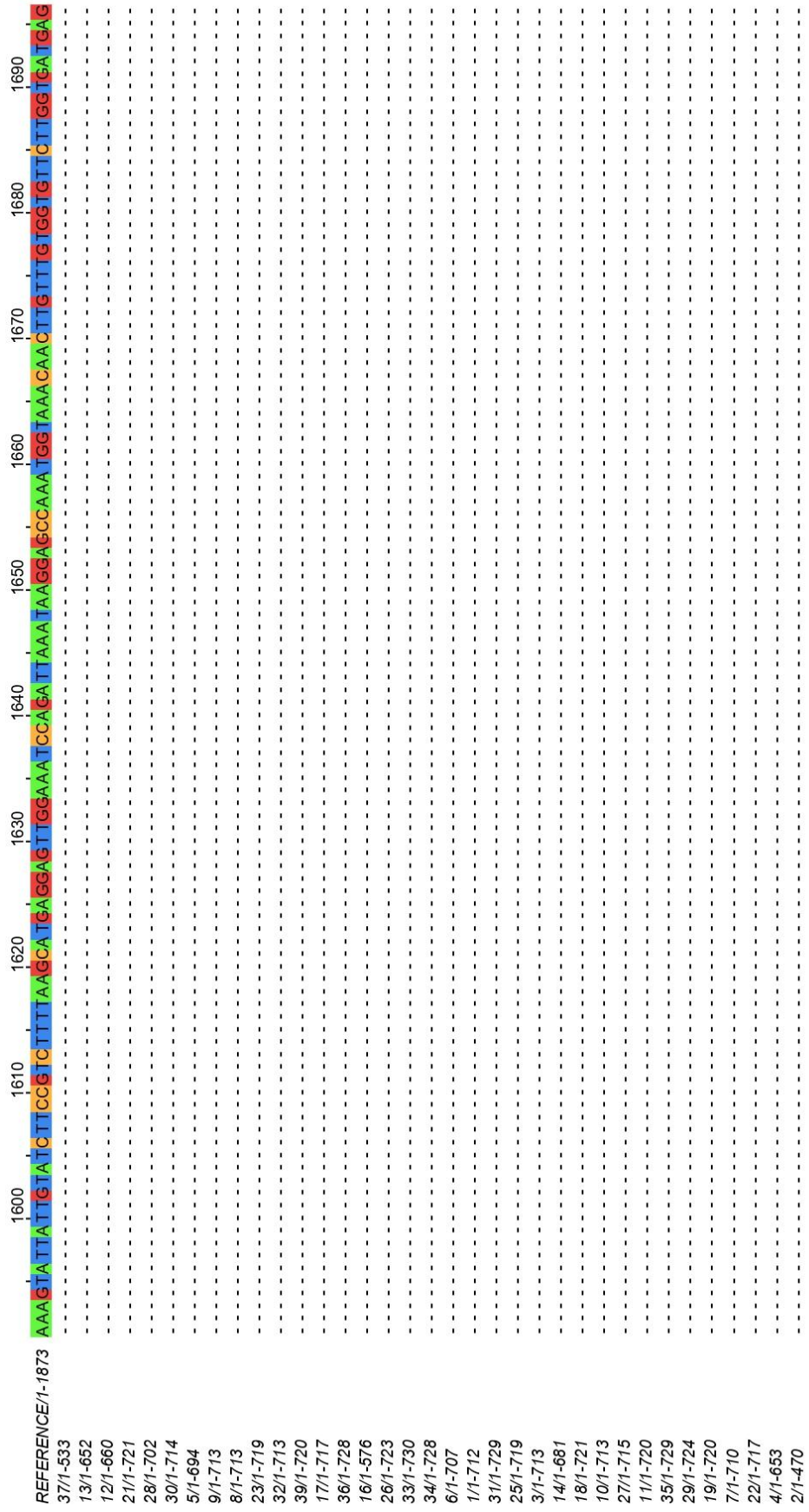
TAAAAAA GAGATTCCAA TTGGTATCAA TTATAA TAGGC TTATAAACA GTTCTGATATAA GCAGGAGAA TTATACAGTACAGTATATGGTATTCATGGTACATGAC

1700 1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800

Consensus

TAAAAAA GAGATTCCAA TTGGTATCAA TTATAA TAGGC TTATAAACA GTTCTGATATAA GCAGGAGAA TTATACAGTACAGTATATGGTATTCATGGTACATGAC

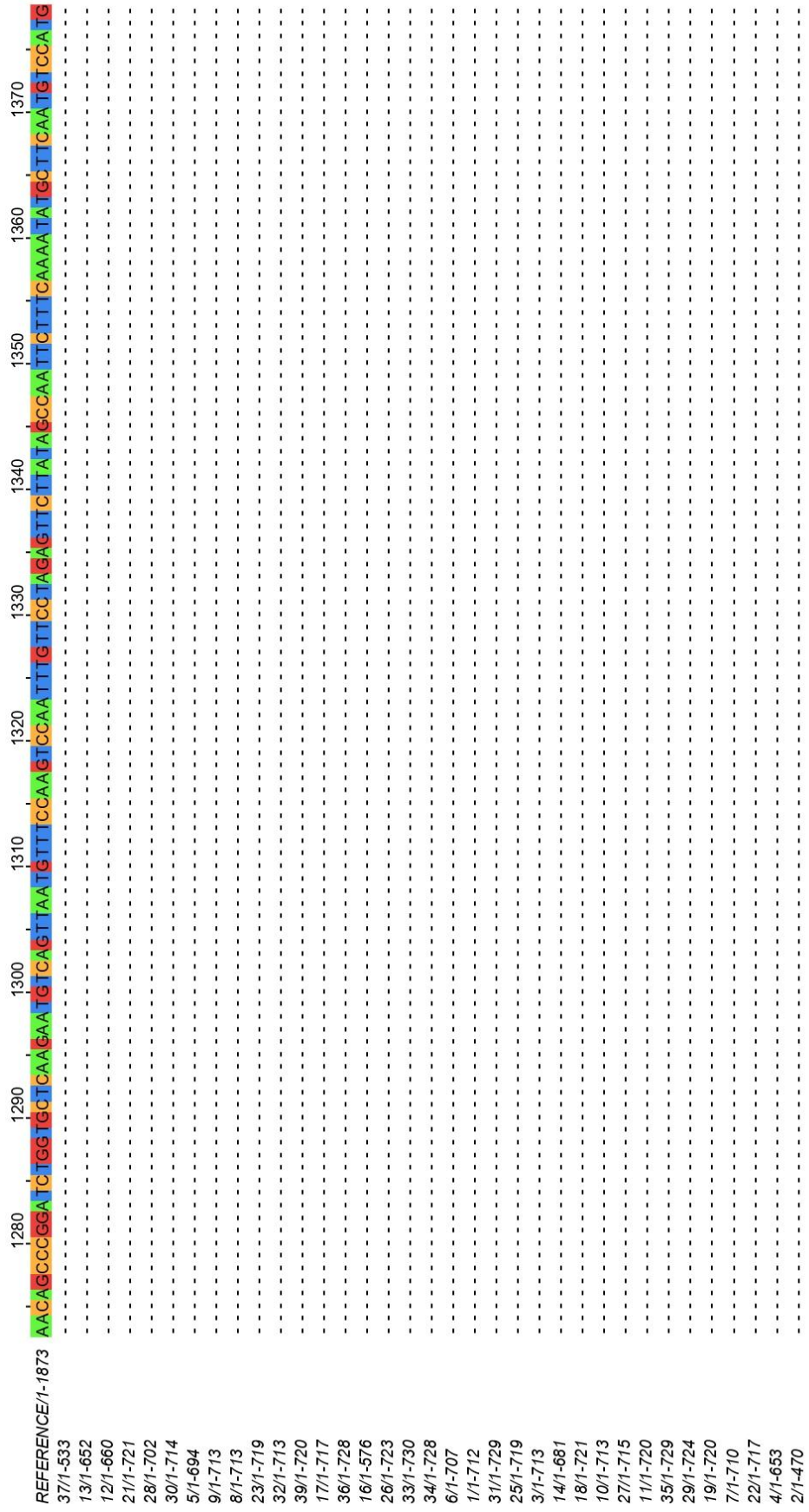
Occupancy



Consensus

AAAGTATTATGATCTCCGCTTTAAGCATGAGAGTGGAAATCCAGATTAAAATAAGCAGCCAAA TGGTAAACAACCTGTTGGTGTCTTGGTGA TGAG
 AAAGTATTATGATCTCCGCTTTAAGCATGAGAGTGGAAATCCAGATTAAAATAAGCAGCCAAA TGGTAAACAACCTGTTGGTGTCTTGGTGA TGAG

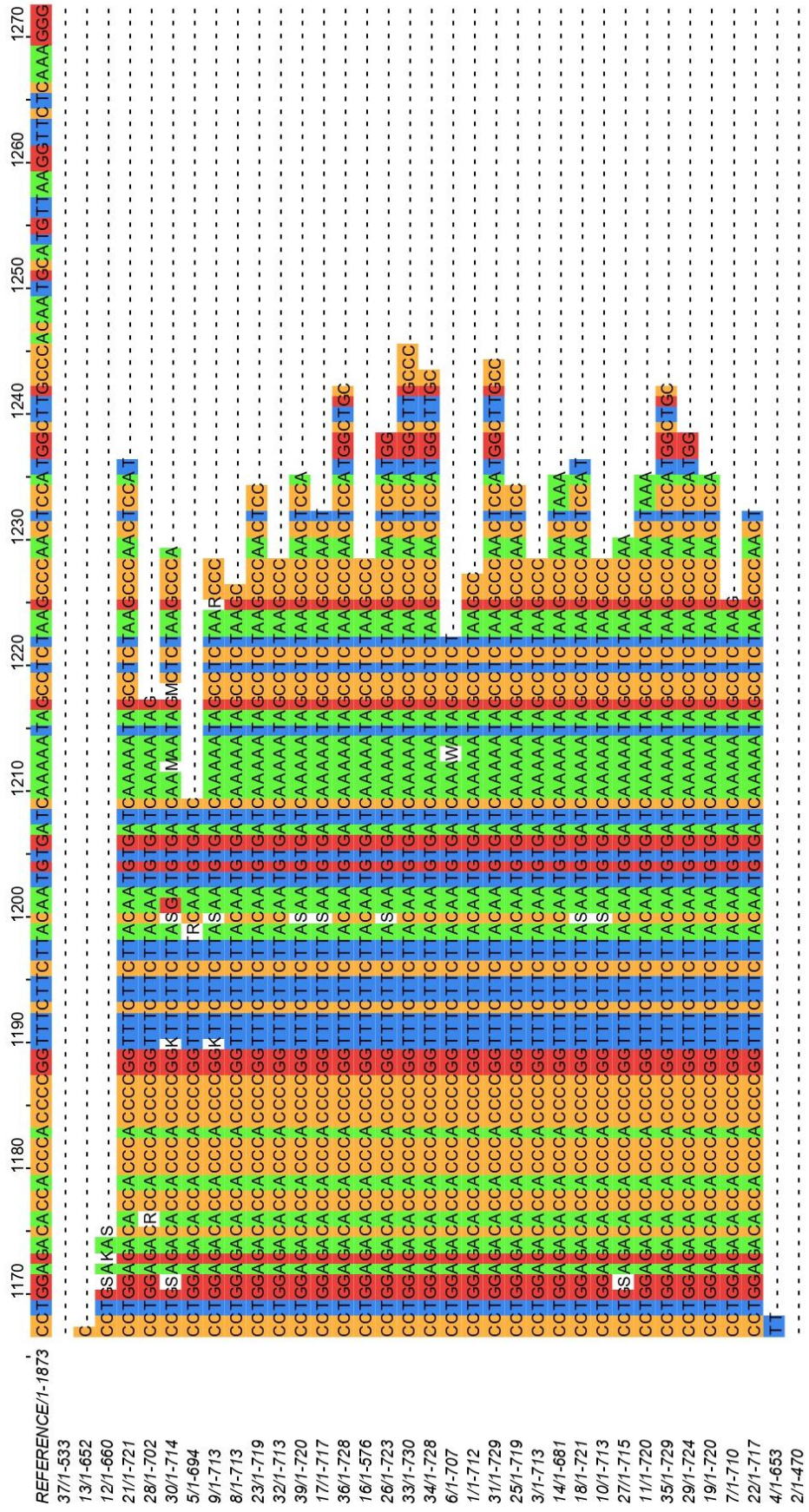
Occupancy



Consensus

AACAGCCCGGATCTGGTGC TCAAGAA TGCAGTTAA TGTCCAAATCCAAATTCCTTCCAGTTCCTTA TAGCCAA TTCCTCAAAA TATGCTTCAAATG TCCAATG
 AACAGCCCGGATCTGGTGC TCAAGAA TGCAGTTAA TGTCCAAATCCAAATTCCTTCCAGTTCCTTA TAGCCAA TTCCTCAAAA TATGCTTCAAATG TCCAATG

Occupancy

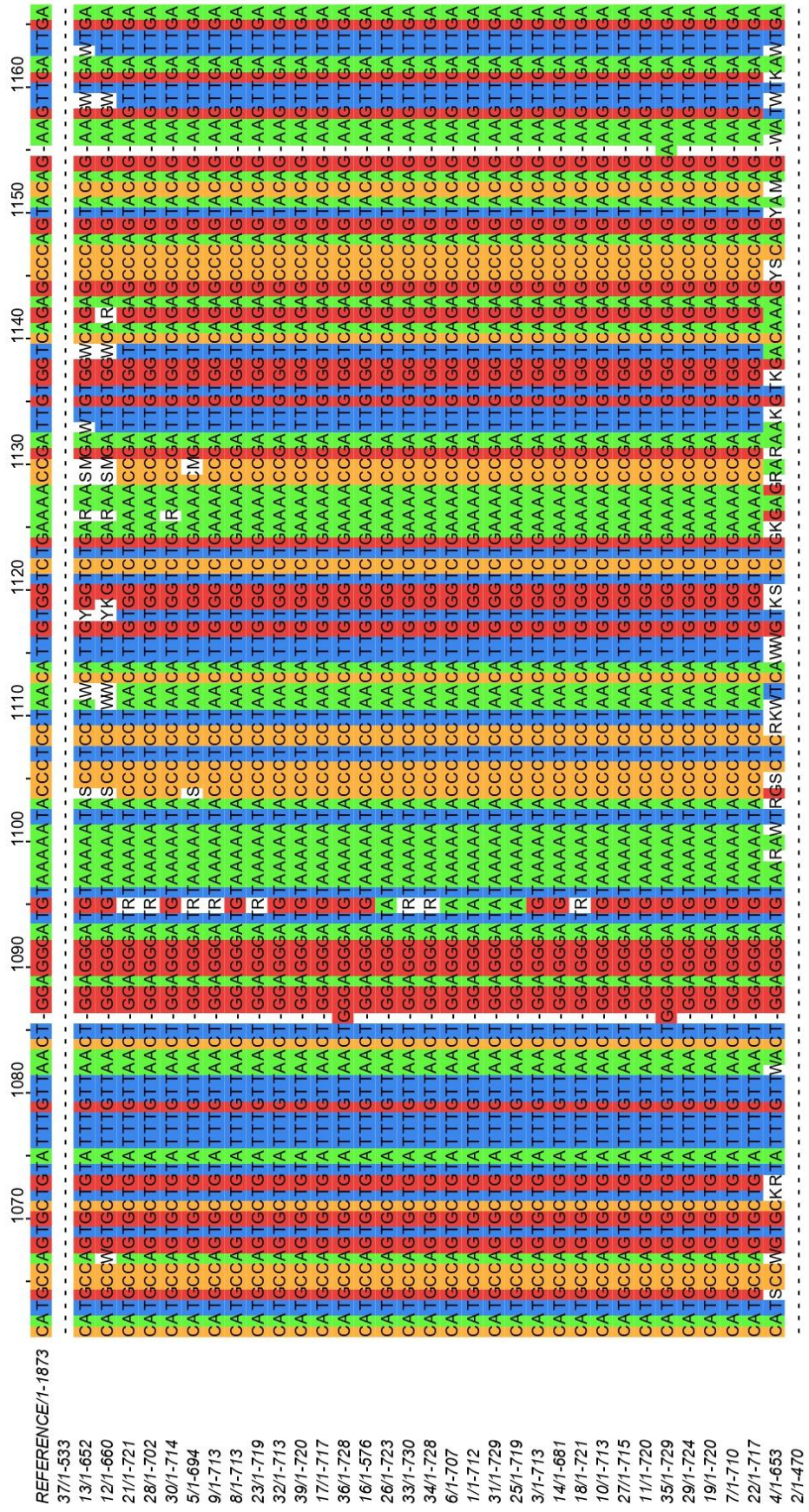


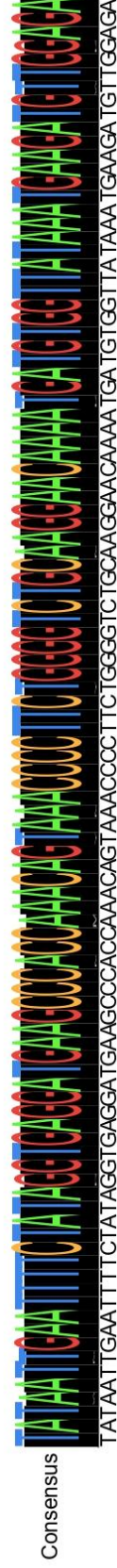
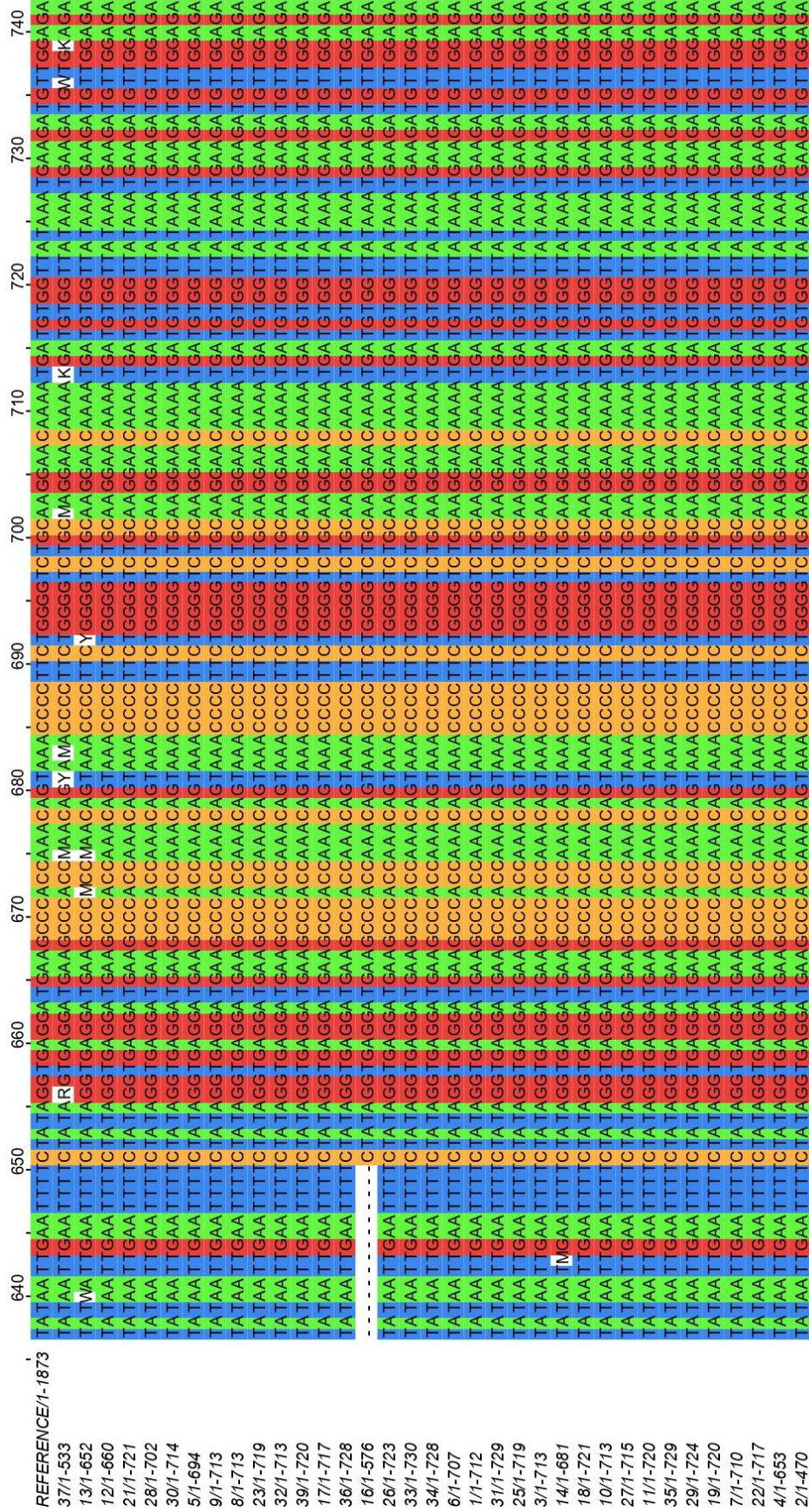
Consensus

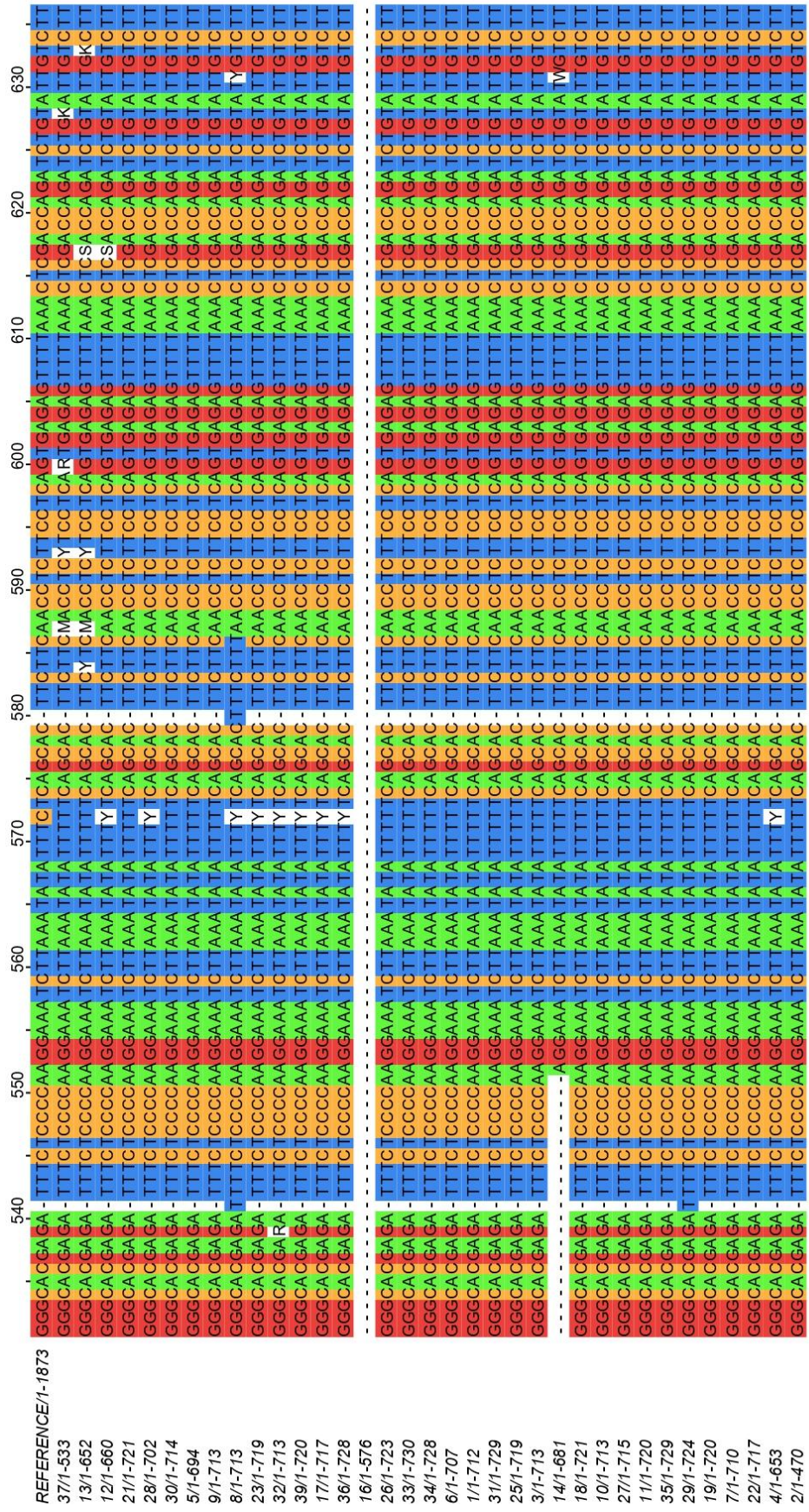


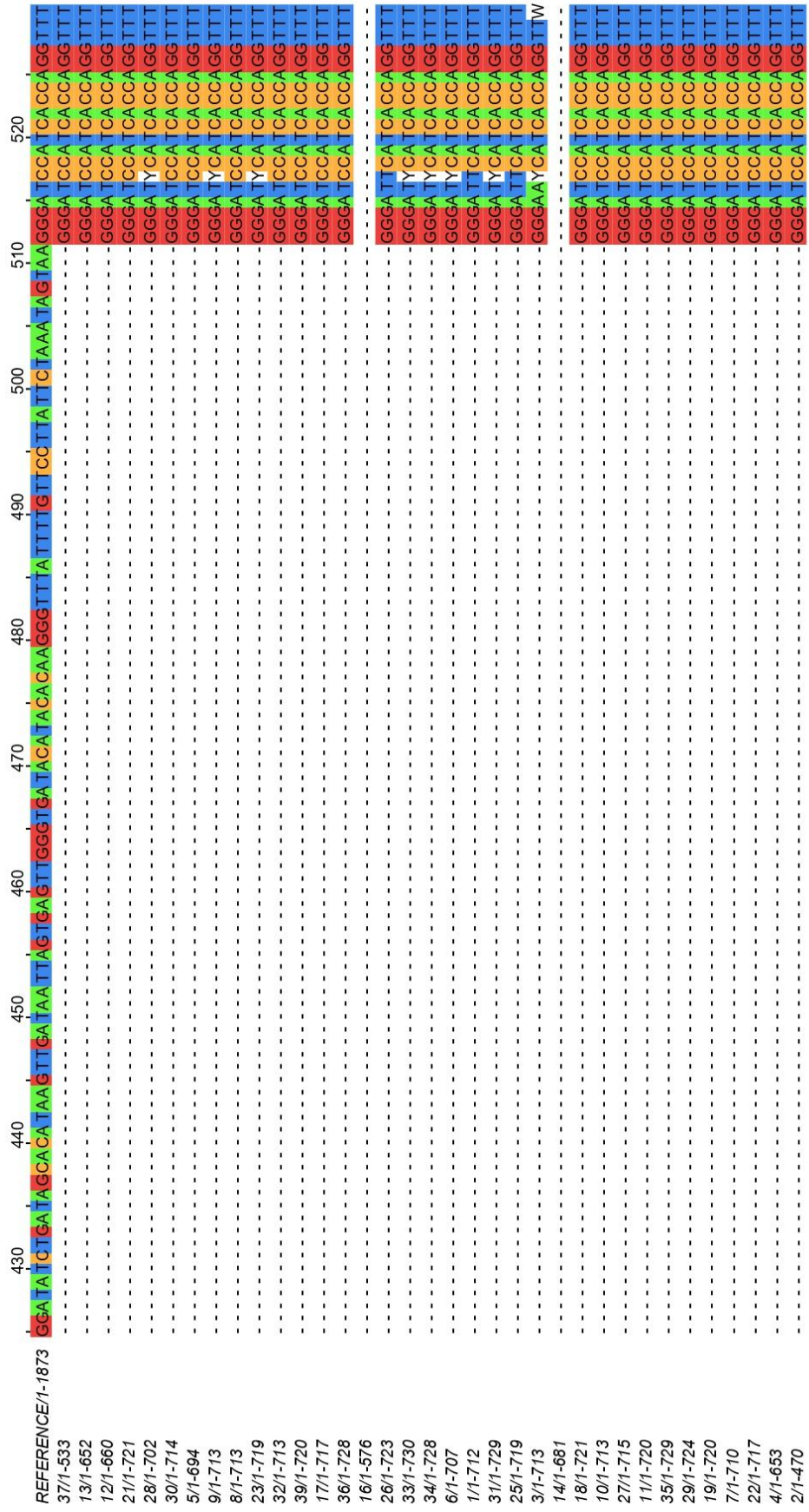
Occupancy



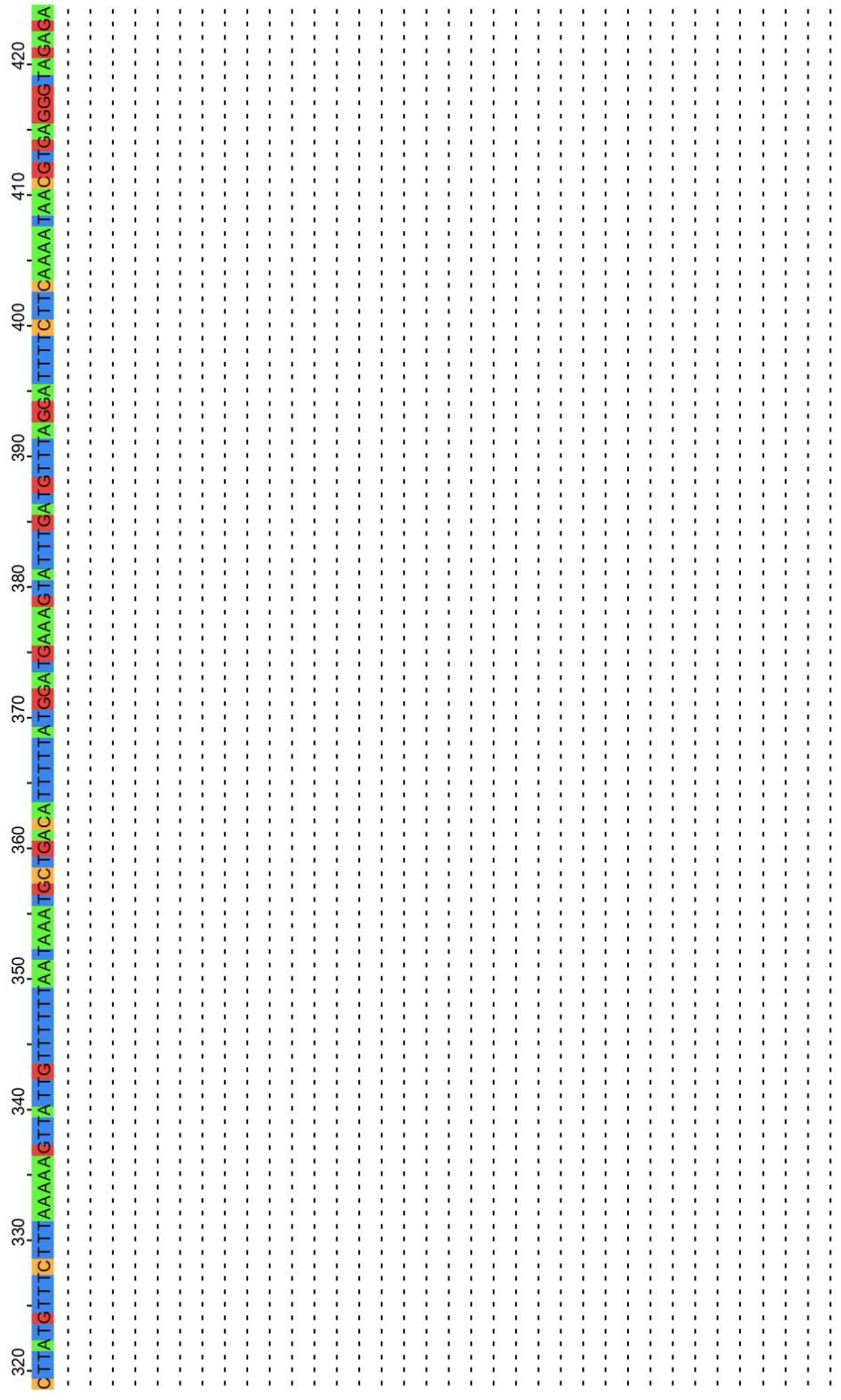








REFERENCE/1-1873
 37/1-533
 13/1-652
 12/1-660
 2/1-721
 28/1-702
 30/1-714
 5/1-694
 9/1-713
 8/1-713
 23/1-719
 32/1-713
 39/1-720
 17/1-717
 36/1-728
 16/1-576
 26/1-723
 33/1-730
 34/1-728
 6/1-707
 1/1-712
 31/1-729
 25/1-719
 3/1-713
 14/1-681
 18/1-721
 10/1-713
 27/1-715
 11/1-720
 35/1-729
 29/1-724
 19/1-720
 7/1-710
 22/1-717
 4/1-653
 2/1-470



Consensus

CTTATGTTCTTAAAAAGTTATTGTTTAAATAAAATGC TGACATTTTATGGA TGAAGTATTTTGA TGTTCGGA TTTTCAAAA TAAACGTCAGGGTAGAGA

Occupancy

REFERENCE/1-1873
 37/1-533
 13/1-652
 12/1-660
 2/1/1-721
 28/1-702
 30/1-714
 5/1-694
 9/1-713
 8/1-713
 23/1-719
 32/1-713
 39/1-720
 17/1-717
 36/1-728
 16/1-576
 26/1-723
 33/1-730
 34/1-728
 6/1-707
 1/1-712
 31/1-729
 25/1-719
 3/1-713
 14/1-681
 18/1-721
 10/1-713
 27/1-715
 11/1-720
 35/1-729
 29/1-724
 19/1-720
 7/1-710
 22/1-717
 4/1-653
 2/1-470

CAATAAA TCAA TATTAAA TGTTTCTTAGCA TGAATCACTC TCGCTTCCCAA GATAA TCACAGGCCA TCC TAAAA TGCC TTTA TTTT TTTA TTAATTTT CAAAA TGTGTC

220 230 240 250 260 270 280 290 300 310

Consensus

CAATAAA TCAA TATTAAA TGTTTCTTAGCA TGAATCACTC TCGCTTCCCAA GATAA TCACAGGCCA TCC TAAAA TGCC TTTA TTTT TTTA TTAATTTT CAAAA TGTGTC

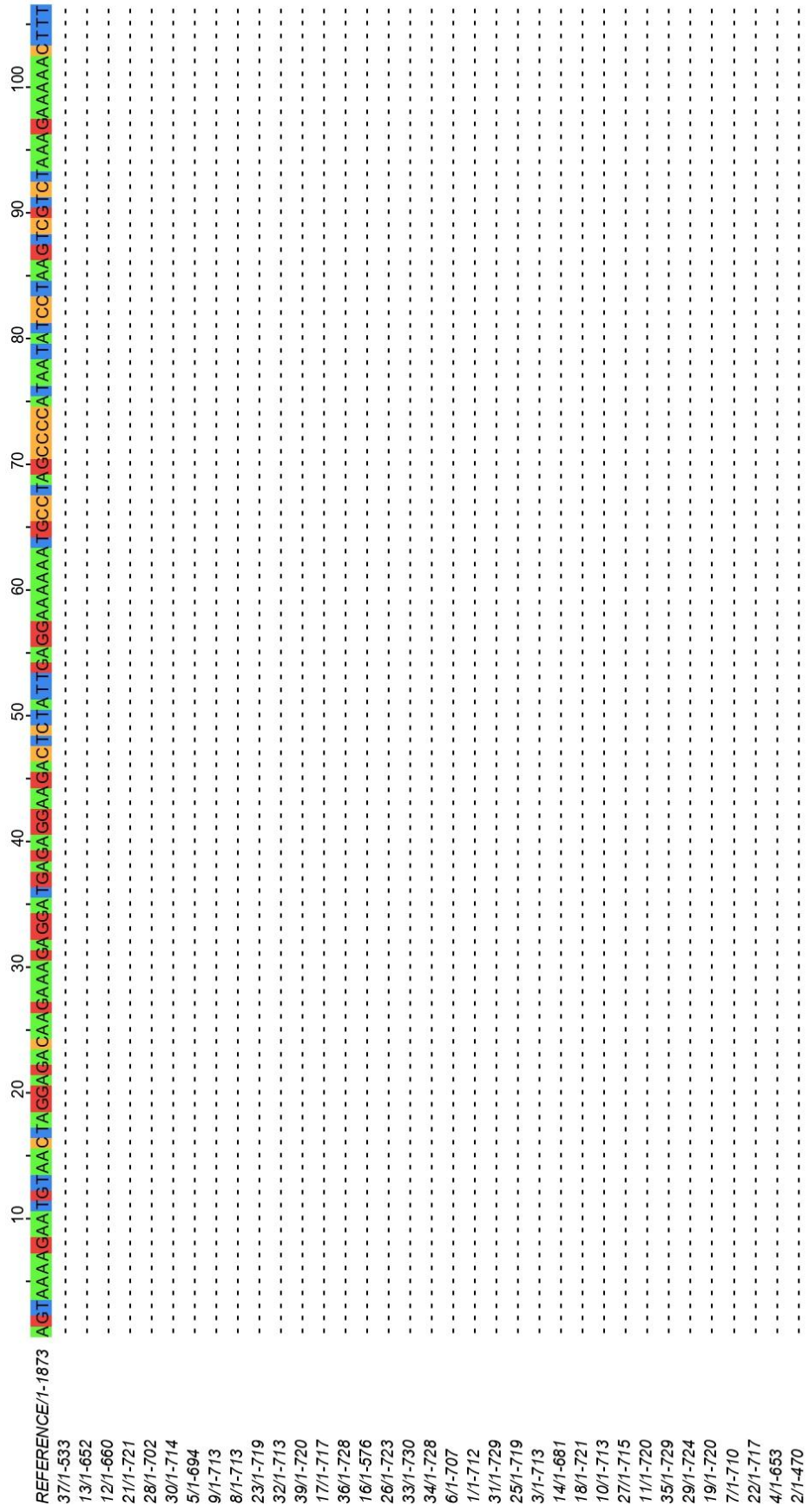
Occupancy

110 120 130 140 150 160 170 180 190 200 210
 REFERENCE/1-1873
 37/1-533
 13/1-652
 12/1-660
 2/1/1-721
 28/1-702
 30/1-714
 5/1-694
 9/1-713
 8/1-713
 23/1-719
 32/1-713
 39/1-720
 17/1-717
 36/1-728
 16/1-576
 26/1-723
 33/1-730
 34/1-728
 6/1-707
 1/1-712
 31/1-729
 25/1-719
 3/1-713
 14/1-681
 18/1-721
 10/1-713
 27/1-715
 11/1-720
 35/1-729
 29/1-724
 19/1-720
 7/1-710
 22/1-717
 4/1-653
 2/1-470

Consensus

GATTCACAAATATTAGCCCAACAATGTTTTCAATAAACCTTAAAGCTTAGACACAGTGAGTTTTCCACAAATCTTTTATCATTTACCCAGTAAAAAATTTACTATGAAATCAA
 GATTCACAAATATTAGCCCAACAATGTTTTCAATAAACCTTAAAGCTTAGACACAGTGAGTTTTCCACAAATCTTTTATCATTTACCCAGTAAAAAATTTACTATGAAATCAA

Occupancy

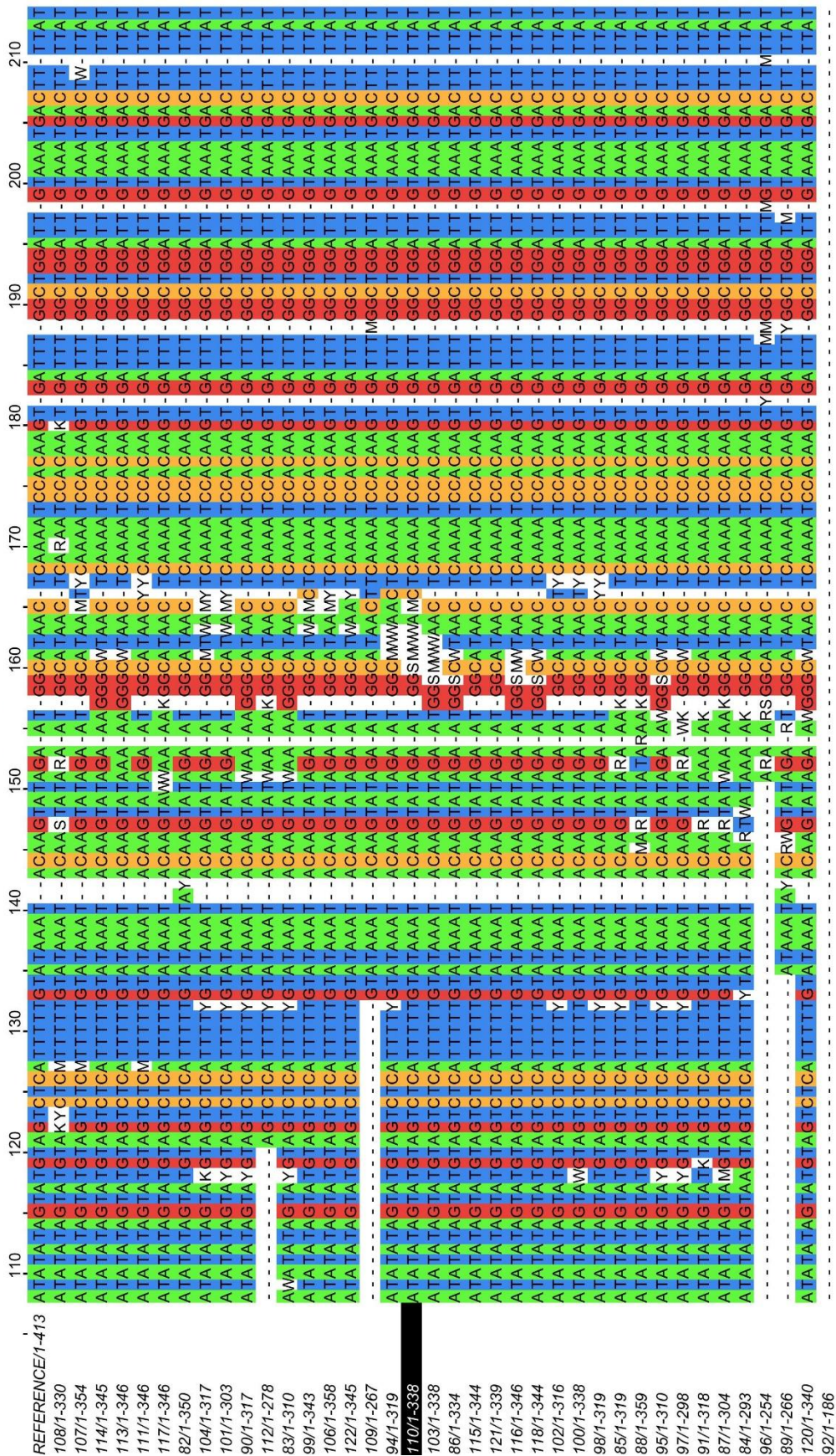


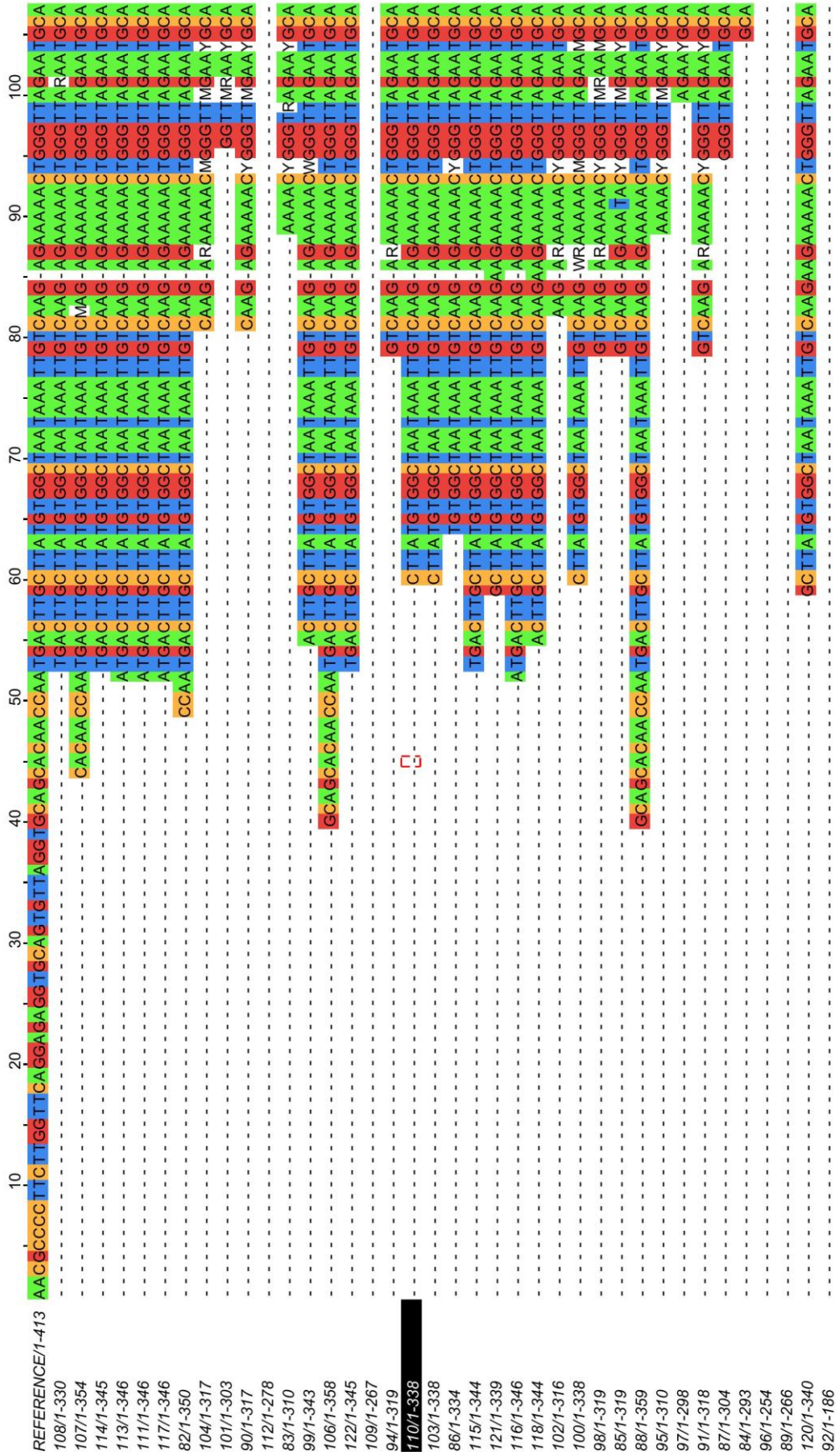
Consensus

AGTAAAAGAAATGTAACTAGGAGACAAAGAAAAGCGATGAGGAAAGACTCTATTCAGGAAAAAAATGCCTAGCCCCATAATCCCTAAAGTCGCTAAAAGAAAAACTTT
 AGTAAAAGAAATGTAACTAGGAGACAAAGAAAAGCGATGAGGAAAGACTCTATTCAGGAAAAAAATGCCTAGCCCCATAATCCCTAAAGTCGCTAAAAGAAAAACTTT

Occupancy



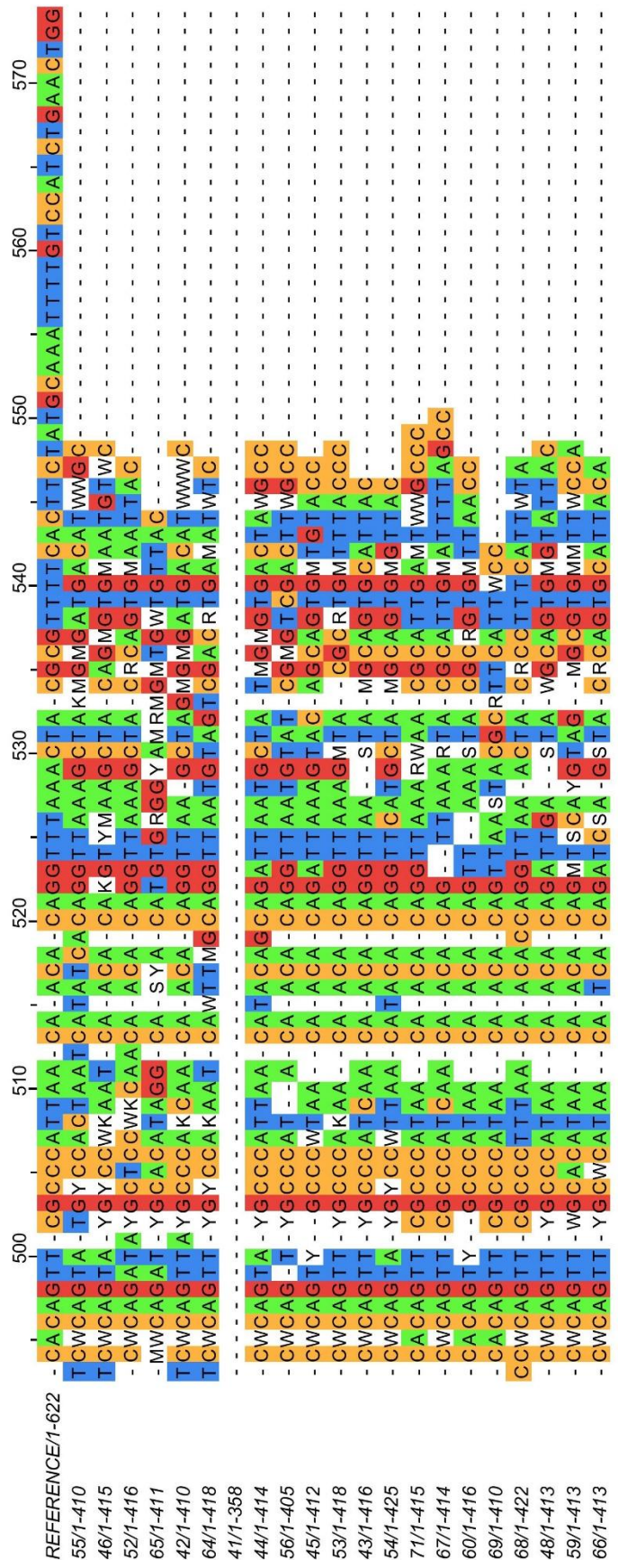


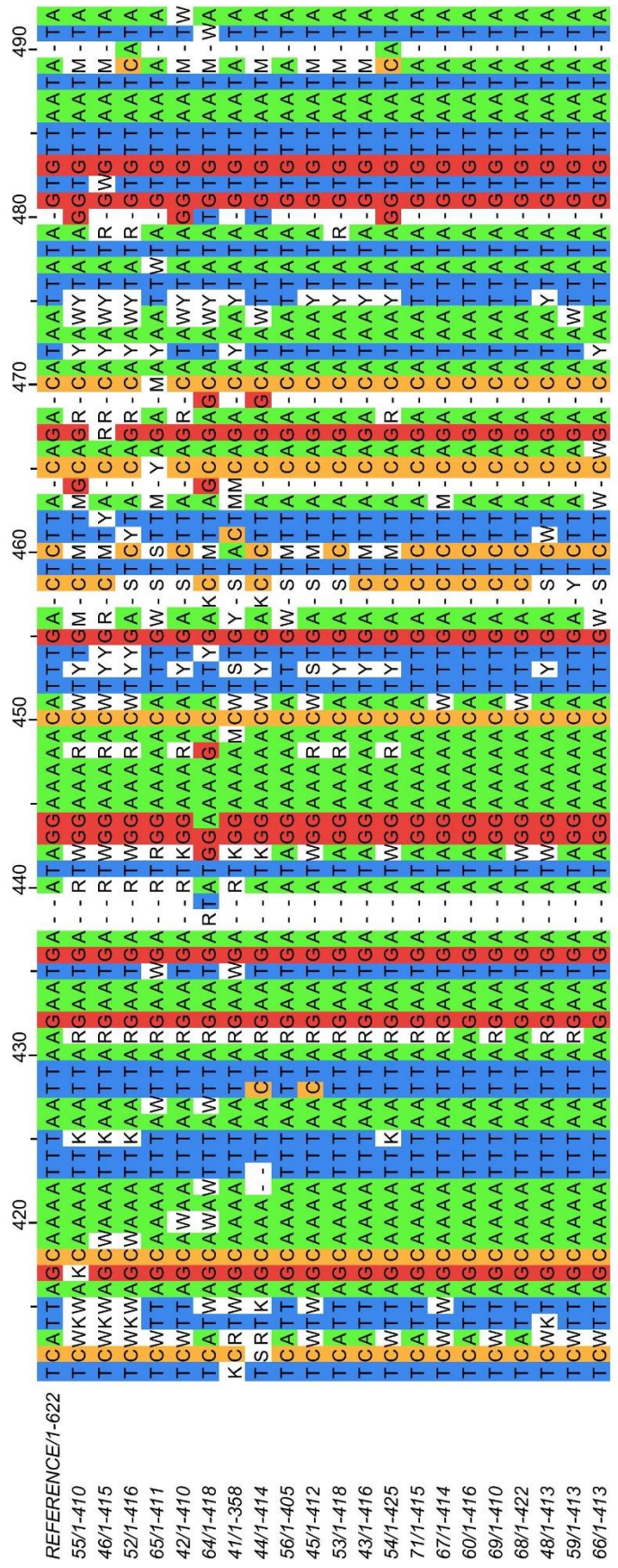


Consensus
AAGGCCCTTCTGGTTCAGGAGGTCAGTGTAGGTCAGCACCAACCTGCTTATGTGGCTAAATAAATGTCAAGAGAAAACCTGGGTAGAAATGCA

Occurrence

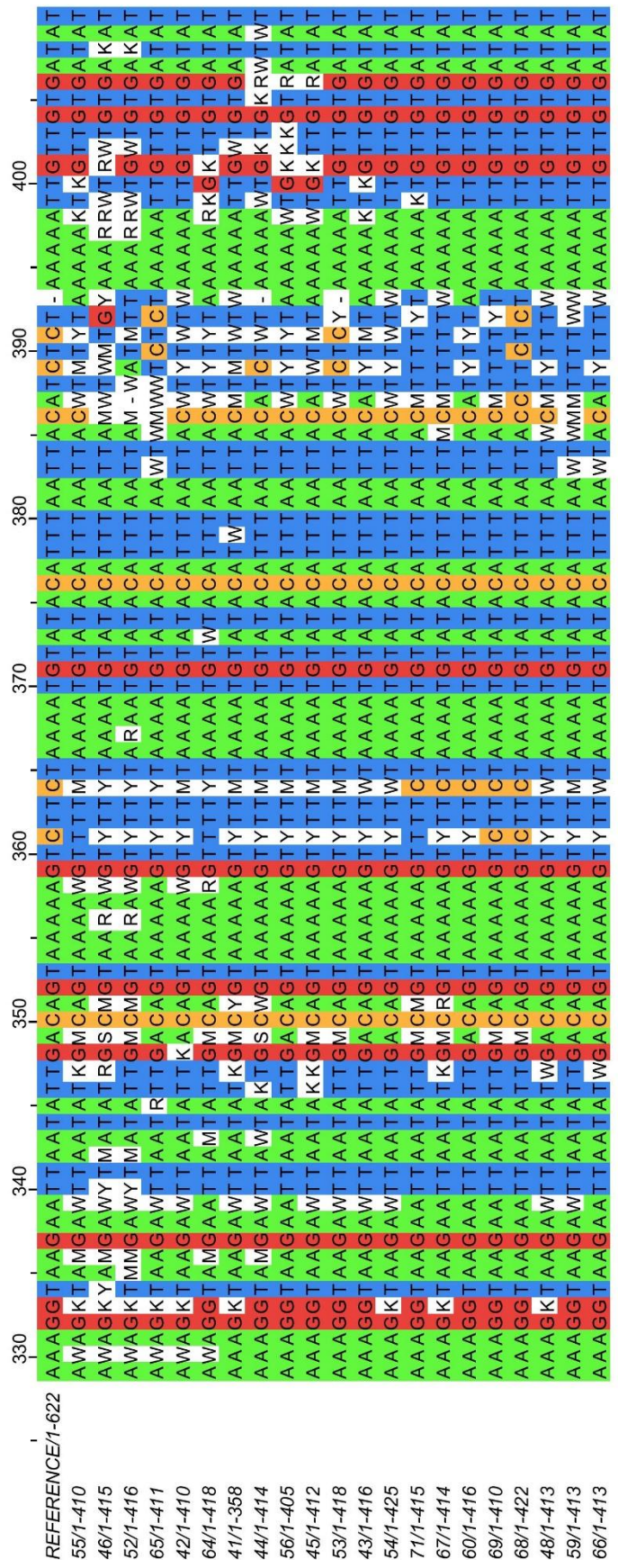






TCWTTAGCAGCAAAATTTAAATARGAATGARTATAGGAAAACATTTGAKCTCTTAGCAGAGCATAA+TATAGGTGTTAATAATA





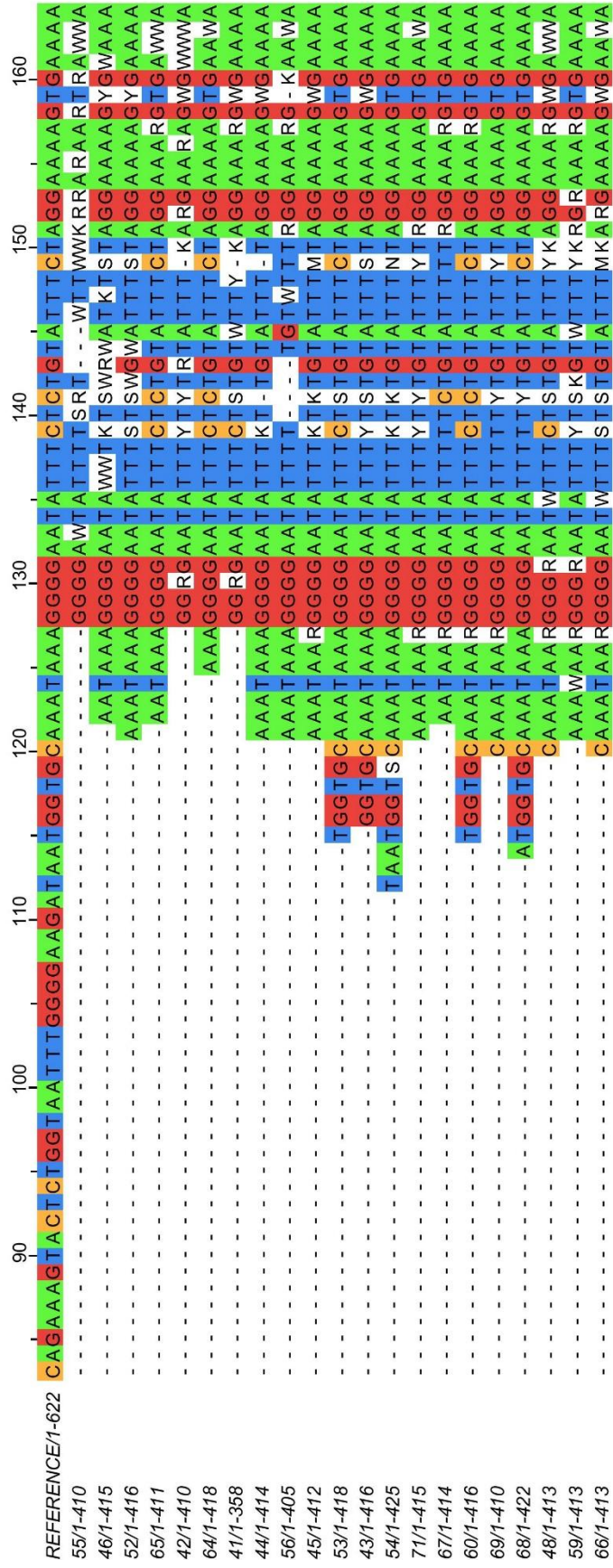
AAAGGTAAGAWTAAATATG+CAGTAAAAGYTTTMTAAAATGATACATTTAAATACWYTTTWWAAAAATGTTGATAT





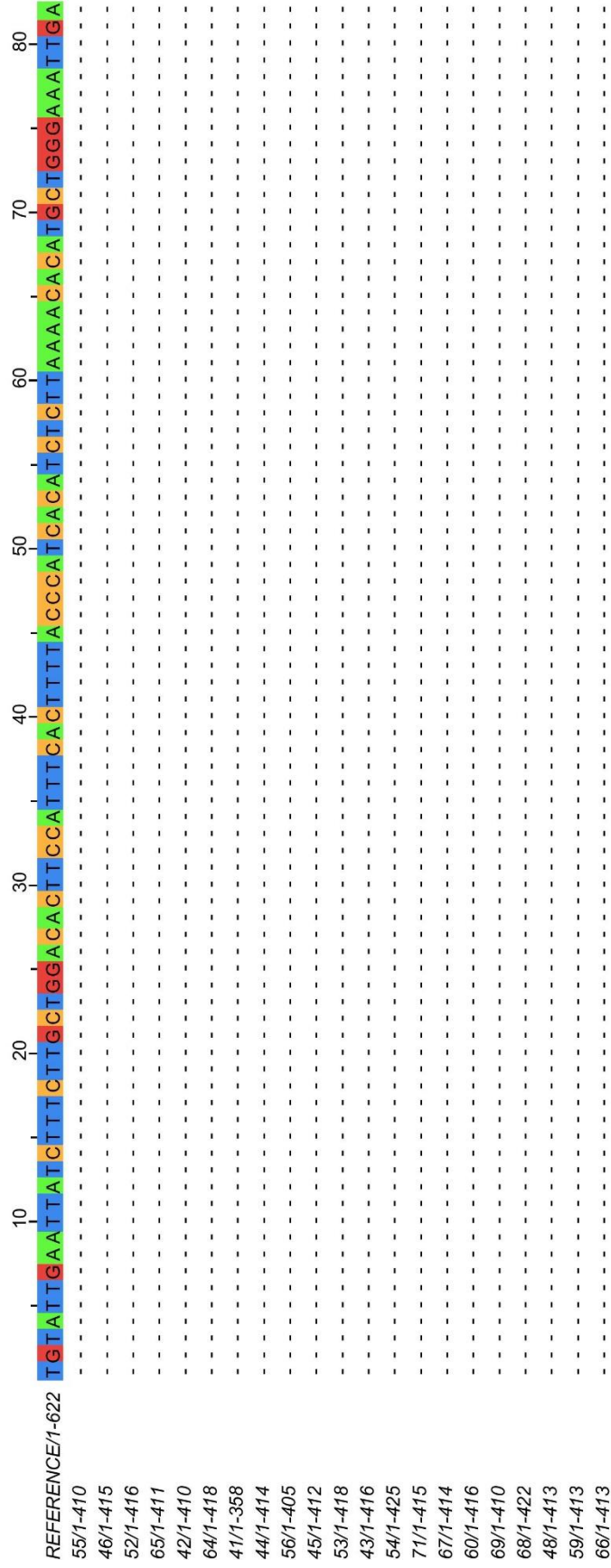
Consensus
 AGAAAAA T T C A A C A T C G M C C T T A T C C A C T T G K W T A A T T A A T C A A A T T T A T C A C T C A A A G A G C A T C C C T G A G A T A G T G G G A

Occupancy



Consensus
CAGAAAGTACICTGGTAATTTGGGAGAGATAAGTGGTGCAAATAAGGGGAATTTCTSTGTATTTCTAGGAAAAGTGAAAA
 CAGAAAGTACICTGGTAATTTGGGAGAGATAAGTGGTGCAAATAAGGGGAATTTCTSTGTATTTCTAGGAAAAGTGAAAA

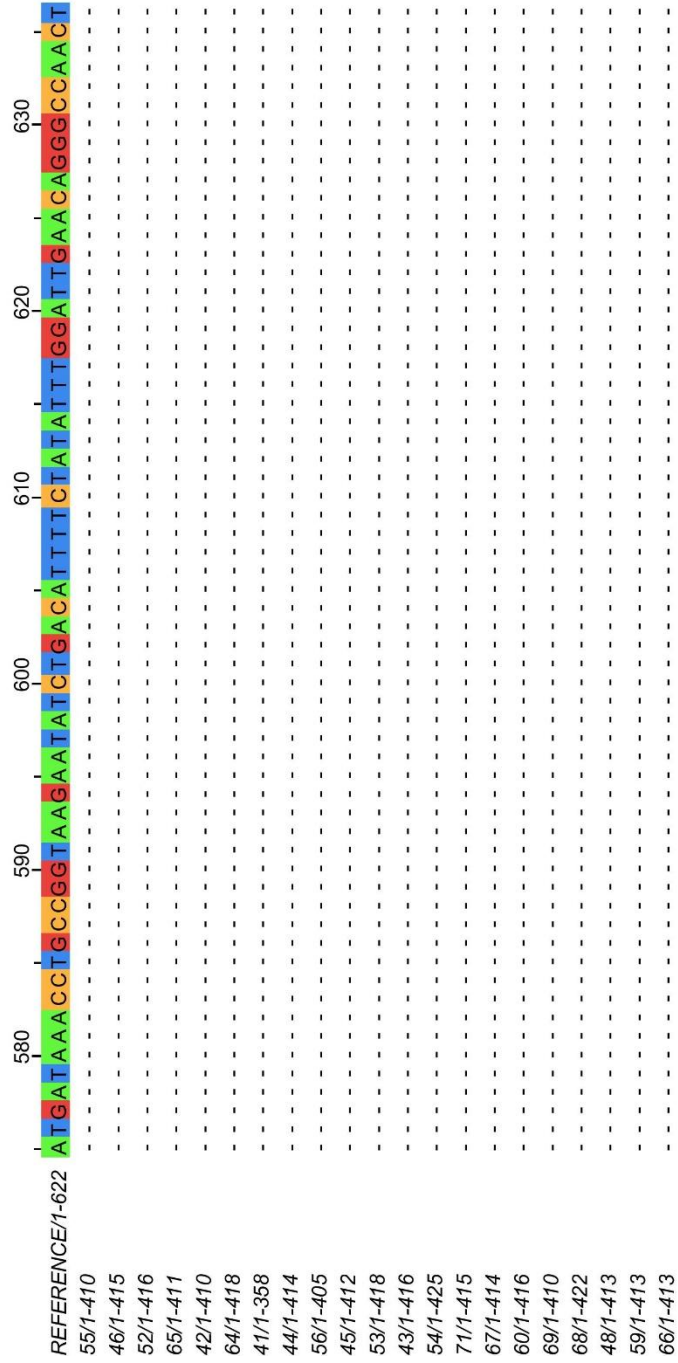




Consensus

TGTATTGAAATTAATCCTTCTTGCTGGACACTTCCATTTCACCTTTTACCAATTCACATCTCCTTAAACAACAATGCTGGGAAATTGA

Occupancy



Consensus

A T G A T A A A C C T G C C G G T A A G A A T A T C T G A C A T T T T C T A T A T T T G G A T T G A A C A G G G C C C A A C T

Occupancy