

Atopik Astımlı Türklerde NAT2 (N acetyltransferase-2) Genotipi

Berrin Ceyhan¹, Ariadna Bourgos², Lyle Palmer³, Jeffrey Drazen²

¹ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

² Brigham and Women's Hospital Harvard Medical School, Pulmonary and Critical Care Medicine, Boston, USA

³ Brigham and Women's Hospital Harvard Medical School, Channing Laboratory, Boston, USA

ÖZET

Atopik Astımlı Türklerde NAT2 (Nacetyltransferase-2) Genotipi

Allerjik hastalıklarda yapılan genetik çalışmalarda yavaş asetilasyonun bir risk faktörü olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır. Vücudumuzda NAT2 (N-acetyltransferase2) yavaş ve hızlı olmak üzere iki farklı hızda çalışan; ilaç, xenobiotik ve karsinojenleri metabolize eden bir asetilasyon enzimidir. Bu hız farkı kişinin etnik yapısına göre değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda NAT2 enziminin fenotipi ile genotipi arasında yakın korelasyon olduğu ve NAT2*4 allelinin homozigot veya heterozigot varlığının hızlı asetilasyona yol açtığı bilinmektedir. Günümüzde NAT2 enziminin yavaş asetilasyon tipi olanı allerjik hastalarda daha sık görülmektedir. Bu vaka-kontrol çalışmasında 57 akraba olmayan Türk atopik astımlı hasta ve 56 akraba olmayan sağlıklı kontrollerde yavaş ve hızlı asetilasyon gösteren NAT2 geninin sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada NAT2 geninde iki farklı mutasyon (C282T ve T341C) varlığı araştırıldı. Yavaş asetilasyon astımlılarda %47 oranında saptanırken kontrol grubunda %43 hastada saptandı, arada istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Yaş, cinsiyet, eosinofili, solunum fonksiyon testi parametreleri ve serum IgE seviyelerinin bu asetilasyon hızıyla ilişkisi gösterilemedi. Bu çalışmanın sonucunda yavaş asetilasyon genotipinin atopik astımlı Türk hastalarda hastalık gelişmesinde genetik bir yatkınlık olarak saptanamadığı ifade edilebilir.

Anahtar sözcükler: astım, allerji, NAT2 (N asetil transferaz 2)

Geliş tarihi: 29.11.2005

Kabul tarihi: 09.12.2005

ABSTRACT

NAT2 (Nacetyltransferase-2) Genotype in Atopic Turkish Asthmatics

It has been shown that slow acetylation may be a risk factor that influences the development of allergic diseases. N-acetyltransferase2 (NAT2), an enzyme that degrades xenobiotics, carcinogens, and drugs, shows a bimodal distribution of rapid and slow acetylators with broad interethnic variation. It has been reported that there is close correlation between phenotyping and genotyping of NAT2. Homozygous or heterozygous NAT2*4 alleles are known to code for rapid acetylation. It has been known that NAT2 slow acetylation type is a risk factor for allergic diseases. In this case-control study, our aim was to assess the frequency of slow and rapid activity of NAT2 with asthma and asthma severity in the Turkish population. Turkish unrelated atopic subjects with asthma (n=57) and unrelated healthy subjects (n=56) were enrolled in this study. We evaluated two mutations (C282T and T341C) in NAT2 gene. The frequency of slow acetylators inferred from NAT2 genotype was not significantly different in asthmatic subjects (47%) and healthy subjects (43%). No significant association was found between NAT2 genotype and either age, sex, lung function test parameters, disease severity, duration, eosinophilia, serum IgE level within the asthmatics. This study suggests that the NAT2 (slow acetylation) genotype is not a marker of predisposition for atopic asthma in the Turkish population.

Keywords: asthma, allergy, NAT2 (N acetyltransferase 2)

Received: 29.11.2005

Accepted: 09.12.2005

GİRİŞ

Astımda genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı bilinmektedir [1]. Günümüzde yapılan genetik çalışmalar astım ve allerji ile birden fazla gen ilişkilendirilmiştir. NAT2 (N-acetyltransferase2) xenobiotik, ilaç ve karsinojen maddeleri metabolize eden bir enzimdir. 1950'lerde isoniazid toksisitesinin genetik olduğundan ve bunun NAT geninin geçişi ile ilgili olduğu ilk kez bahsedilmiş ve bunu izleyen pek çok çalışma yayınlanmıştır [2-4]. NAT2 geni 8 nolu kromozom üzerinde bulunmakta ve pter-q11 lokusunda 870 bp içermektedir. Geçiş otozomal kodominans ile olmakta ve NAT2*4 allel varlığı wild tipte hızlı asetilasyon için yeterli olmakla birlikte ancak çok nadiren NAT2*1-2A varlığının da hızlı asetilasyona yol açtığı bildirilmiştir [5-10]. Yavaş fenotipe yol açan mutasyona uğramış genler-

de ise *5B, *6A, daha az sıklıkla *5A, 5C,*7B, allel varlığı gösterilmiştir [7,11-14]. Almanya'da yaşayan Türkiye'nin güneydoğu bölgesinden oraya göç etmiş Türklerde yapılan NAT2 enzim genotiplemesinde yavaş asetilasyon mutasyonu %57.4 vakada saptanmıştır [15].

Günümüzde NAT2 enziminin yavaş asetilasyonunun allerjik hastalıklarla birlikteliğinin yüksek gözlemlendiği belirtilmiştir. İlk kez Patkowski ve ark. allerjik rinitlilerin %80'inde yavaş asetilasyonun varlığını göstermişlerdir [16]. Daha sonra Zielinska ve ark. %91 allerjik çocukta ve Gawronska -Szklarz ve ark. %85 allerjik bireyde yavaş asetilasyon genotipi göstermişlerdir [17,18]. Biz de Türk toplumunda bu enzime ait yavaş genotipin varlığı ile atopik astımın birlikteliğini saptamak amacıyla atopik astımlı hastalarla sağlıklı kontrolleri karşılaştırdık ve astım hastalığının ağırlığı ile NAT2 fenotipini ilişkilendirmeye çalıştık.

Yazışma Adresi: Prof. Dr. Berrin Ceyhan, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı İstanbul-Türkiye, Tel: +90 216 3022500, e-posta: berrin.ceyhan@superonline.com

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu vaka-kontrol çalışmasına Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran akraba olmayan sigara içmemiş 57 atopik astımlı (45 kadın, 12 erkek) ve akraba olmayan 56 (44 kadın, 12 erkek) sağlıklı kontrol alındı. Çalışma protokolu Üniversite Etik Kurul onayını aldı.

Hastalar pulmoner ve allerjik semptomları, öz ve soy geçmişleri açısından sorgulandıktan sonra fizik incelemeye tabi tutuldular. Solunum fonksiyon testleri, hafif grupta metakolin testi, cilt allerji testi ve radyografik incelemeleri yapıldıktan sonra 15cc kan alınarak DNA ekstraksiyonu, hemogram, periferik yayma ve daha sonra IgE analizi için -40°C'de serumların saklanması yapıldı. Hastalara cilt allerji testlerinden ağaç ve ot polenleri, ev tozu, mantar ve kedi-köpek tüyü içeren standart alerjenler, negatif ve pozitif kontrol kullanılarak yapıldı. 3mm üzerindeki cilt reaksiyonları pozitif olarak kabul edildi. Kontrol grupta allerjik yakınmaların olmaması, normal fizik muayene, normal solunum fonksiyon testi ve negatif cilt allerji testi olması kriter alındı. Eosinofili için >%4 anlamlı kabul edildi. Total IgE seviyeleri astım ve kontrol grubunda tüm örnekler birlikte ELISA ile saptandı (Pharmacia, İsveç). Metakolin testinde Mediprom FDC 88 dosimetre cihazı kullanılarak standart metod uygulandı [19].

DNA izolasyonu ve PCR-RFLP tekniği

DNA izolasyonu için 5 ml periferik kan örnekleri (etylenediaminetetraaceticacid içinde) soğuk zincirde saklanarak Boston'daki laboratuvara nakledildi. NAT2'ye ait C282T ve T341C mutasyonlarına ait primerler Almanya Berlin Klinische Pharmakologie Enstitüsünden Dr Ingolf Cascorbi'den temin edildi.

Polymeraz zincir reaksiyonu (PCR). NAT2'ye ait C282T ve T341C mutasyonların saptanması amaçlandı, ileriye doğru: 5'AGGAAATCAAATGCTAAAGTATGATA-3' ve geriye doğru: 5'CTAGCATGAATCACTCTGCTTC-3' primerleri kullanıldı. PCR karışımı (25 µl) 200 ng of genomic DNA, 10 pmol primer, 2.5 µl of 10X PCR buffer (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), 2.5µl 2 mM deoxynucleoside triphosphataz (adenosine, cytidine, thymidine, and guanosine) solusyonundan ve 1.5 ünite *Taq* polymerase içermektedir. PCR uygulamasında örnekler PTC-100 (MJ Research, MA,USA) cihazında 94°C'de 6 dakika ısıtıldıktan sonra 94°C'de 1 dakikalık 35 siklus bekletildi ve sonra 59°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika, 72°C'de 6 dakika ısıtıldı. 15µl PCR örnekleri %1.5 agarose gel üzerinde yürütüldü ve ethidium bromide ile ultraviyole ışık altında görüntüldü. 1198 baz çifti fragmanları amplifiye edildi ve restriction enzim tarafından kesildi.

Restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). Kullanılan restriksiyon enzimleri ise:

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubun klinik özellikleri

	Astım	Kontrol	P değeri
Hasta ve kontrol sayısı	57	56	
Kadın	45	44	>0.05
Erkek	12	12	>0.05
FEV ₁ beklenen (%)	75.2±23.6	104.3±11.0	0.001
IgE(IU/L)	288±323	68±122	0.001
Periferik eosinofili (%)	3.84±3.90	1.50±1.93	0.001

1. *TspRI* (New England Biolabs, Beverly, MA) NAT2 geninin 341. pozisyonundaki mutasyonu saptamak için kullanıldı. 15 µl PCR örneğinin 30 µl'ye tamamlanacak şekilde üzerine solüsyon konuldu. Bu solüsyon 10 ünite *TspRI*, 3.0 µl 10X NEBuffer ve 0.3µl 100X bovine serum albumin (100 µg/ml) içermekteydi. Restriksiyon enzimi ile total 16 saat 65°C'de işlem sürdürüldü. T allel için 467, 374, 357 baz çifti and C allel için 438, 374, 357, 29 baz çifti fragmanları %1.5 agaroz üzerinde ethidium bromide ile görüntüldü.

2. *FokI* (New England Biolabs, Beverly, MA) NAT2 genindeki 282. pozisyonundaki mutasyonu saptamak için kullanıldı. Solüsyon 15 µl PCR solüsyonu üzerine final volum 25 µl olacak biçimde ilave edildi. Bu solüsyon 4 U *FokI*, 2.5µl of 10X NEBuffer 4 içeriyordu. Restriksiyon enzimi ile işlem 37°C de total 3 saat sürdü. T allel için 758, 288, 122, 30 baz çifti ve C allel için 429, 329, 288, 122, 30 baz çifti %2.5 agarozda ethidium bromide ile görüntüldü.

İstatistik analizi

Multivariate regresyon analiz metodu kullanılarak NAT2 genotipi astım riskini etkilemekte midir sorusuna yanıt arandı. Ayrıca astım ve kontrol grubu arasındaki yaş, cinsiyet, IgE, eosinofili ve solunum test parametreleri farkları t-test ile test edildi. İstatistik metodları Harvard Tıp Fakültesi Channing Laboratuvarı'nda Minitab v13 (Minitab Inc) ve S-Plus 2000(Mathsoft Inc) programları kullanılarak gerçekleştirildi. P değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu vaka-kontrol çalışmasına toplam yaş ve cins eşitlenmiş 57 atopik astımlı (yaş: 42±16) ve 56 sağlıklı kontrol (yaş: 41±15) alındı. Ancak başlangıçta DNA ekstraksiyonu ve PCR uygulaması sırasında 6 hastada yeterli sonuç elde edilemeyince çalışma dışı bırakıldılar. Astımlı grupta 34 hasta hafif, 23 hasta ağır astımlı idi.

Tablo II. Astım ve NAT2 yavaş asetilasyon ilişkisi

Parametre	İlişkili faktör	Risk oranı (%95 CI)	P değeri
Astım ^a	NAT2 yavaş asetilasyon	0.75 (0.29 - 1.92)	0.55
Astım ağırlığı ^b	NAT2 yavaş asetilasyon	0.46 (0.14 - 1.48)	0.19
Hastalık süresi (yıl) ^b	NAT2 yavaş asetilasyon	-3.98 (2.89) ^c	0.17

^a Yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi eşitlenmiş astım ve kontrol grubunda

^b Yaş ve cinsiyet eşitlenmiş astım grubunda

^c Regresyon katsayısı [β] (SE)

Vakaların klinik özellikleri, solunum testi parametreleri, eosinofil ve IgE değerleri Tablo I'de verildi. Cilt allerji testi pozitifliği 5 farklı alerjene karşı değerlendirildi ve bir alerjene yanıt %40 hastada, iki alerjene yanıt %25 hastada, üç alerjene yanıt %17 hastada, 4 alerjene yanıt %10 hastada, 5 alerjene yanıt %8 hastada saptandı.

Hastaların 42/57 (%74)'de ve kontrollerin 14/56 (%25)'da aile bireylerinden birinde atopi ve/veya astım yakınmaları olduğu öğrenildi ($p < 0.001$). Ailede pozitif öykü ağır veya hafif astımı olan grupta farklılık göstermedi. Ailede sigara içme öyküsü açısından astım ve kontrol grubu arasında önemli fark gözlenmedi.

Astım ve kontrol grubu genotiplemesi karşılaştırıldığında ise yavaş asetilasyon oranı astımlılarda %47 oranında saptanırken kontrol grubunda %43 hastada gözlendi ve istatistiksel fark gözlenmedi ($X^2:0.08$, $p < 0.77$). Hastaların yaş, cins, aile öyküsü, eosinofili ve IgE seviyeleri de bu genotip üzerinde etkili bulunmadı. Hastalık ağırlık ve süresi de genotip ile ilişkilendirilemedi (Tablo II).

Homozigot hızlı %11, heterozigot hızlı %42 ve homozigot yavaş asetilasyon oranları ise %47 astımlı hastada gözlenirken bu oranlar kontrol grupta sırasıyla %5, %52 ve %43 şeklinde bulundu.

TARTIŞMA

Bu çalışmada atopik astımlı Türk hastalarda yavaş NAT2 enzim asetilasyonunun kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermediği gözlenmiştir (%47 ve %43). Ancak toplumumuzda görülen yavaş asetilasyon oranı batı toplumlarından çok farklı bulunmamıştır. NAT2 genotipleme sonuçlarında yavaş asetilasyon 844 Alman'da %59 [11], 107 Polonyalı'da %63 [20], 248 Polonyalı'da %63 [14], 76 beyaz Amerikalı'da %66 [21], 243 beyaz İspanyol'da %53 [22], 81 İsviçreli'de %41 [23] oranında saptanmıştır. Bizim kontrol grubumuzun yavaş asetilasyon oranı %43 oranında saptanmıştır. Bu daha önce Güneydoğu Anadolu'dan Almanya'ya göç eden hastalarda saptanan %57 oranından düşüktür. Bu popülasyon Türki-

ye'nin belli bir bölgesinde yaşayan kişilerdir. Bizim popülasyonumuz ise İstanbul'a Anadolu'nun çeşitli yörelerinden göç etmiş karışık bir grubu içermektedir [15].

NAT2 fenotiplemesinde geçmişte kafein testi yaygınca uygulanmıştır. Hasta kafeini aldıktan sonra metabolitleri olan 5-acetyulamine-6-formylamine-3-methyluracil (AFMU) ve 1-methylxanthine (IMAX)'nın oranlarının idrarda saptanması esas alınmıştır. Bu testte absorpsiyon, distribusyon, eliminasyon ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda kafein testi ile genotipleme arasında %90-95 uygunluk saptanınca kafein testi daha çok bir tarama testi özelliği kazanmış ve genotipleme genel olarak kabul görmüştür [11,12,24-27]. Hızlı asetilasyona yol açan ana gen NAT2 *4 allel varlığıdır [5,6,14,15]. Biz de bu nedenle hastalarımızda *4A varlığını hızlı asetilasyon araştırması için yeterli varsaydık. Cascorbi ve arkadaşlarının NAT2 genotipini belirlemede yeterli olduğunu ifade ettiği C282T ve T341C mutasyonlarının varlığını araştırdık [28].

Asetilasyon hızının allerji ile ilişkisi daha çok histamin ile ilgili bilgilere dayanmaktadır. Histamin asetilasyon ile inaktive olmaktadır [29]. Histaminin reseptöre bağliken inaktivasyonu asetilasyon ile olmaktadır. Histamin prostaglandin, lökotrien ve kemotaktik faktör salınımını artırmaktadır [30]. Asetilasyon hızındaki yavaşlama allerjik etkileri artırabilmektedir. NAT2 genotiplemesinin yiyeceklerle pozitif cilt allerji cevabı ile yakın ilgisi de gösterilmiştir [31]. Patkowski ve arkadaşları da kronik allerjik rinitli hastaların %80'de yavaş asetilasyon saptamışlardır [16]. Zielinska ve arkadaşları da dokümente inhalasyonel ve/veya yiyecek allerjisi olan çocuk hastalarda toplam 4 mutasyonel bölgeyi incelediklerinde (481T, 590A, 803G, 857A) hastaların %9'da mutasyona uğramamış hızlı NAT2 enzim genotipi (wild-tip) saptamış ve bunlardan birinin homozigot olduğunu saptamışlardır. Geriye kalan çocuklarda (toplamın %91'i) mutasyona uğramış gen allelleri saptanmıştır. Kontrol grubunda ise %38'de wild tip hızlı genotip, %62'de ise yavaş genotip (homozigot veya heterozigot) gözlenmiştir [18]. Gawronska-Szklarz ve ark atopik yakınmaları olan 62 çocuk ve 23 erişkinde 185 sağlıklı kontrolle karşılaştırdıkları çalışmada %85 astımlı ve %54 kontrol vakasının yavaş asetilasyon genotipine sahip olduklarını saptamışlardır ($p < 0.001$) [17]. Yeni yapılan bir Güney Doğu Anadolu çalışmasında ise yavaş asetilasyon sıklığı %57 oranında saptanmış ve bu asetilasyon tipinin ekstrinsik astım için bir risk faktörü olduğu bulunmuştur. Yine bu sonuçlar sadece bu bölgede yaşayan popülasyonu içermekte ve genel olarak Türkiye'yi yansıtmamaktadır.

Biz çalışmamızda bu kadar yüksek oranda yavaş asetilasyon saptayamadık. Yurtdışında yapılmış bütün çalışma-

lar Polonyalı allerjik hastalar üzerinde ve Türkiye'deki çalışmalar da sadece güney doğulu popülasyonu içerdiği için etnik bir farklılık varlığı sorgulanmalıdır. Ayrıca kontakt allerjisi olanlarda yapılan bir çalışmada da hızlı asetilasyon bir risk gurubu olarak bulunmuştur [27].

Bu çalışmanın ışığında NAT2 enzim yavaş genotipinin Türk atopik astımlılarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme saptayamadığımızı ifade etmek isteriz. Bu konuda farklı etnik gruplar üzerinde geniş sayıda hastalarla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Panhuysen CI, Bleeker ER, Koeter GH et al. Characterization of obstructive airway disease in family members of probands with asthma. An algorithm for the diagnosis of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1734-42.
- Bonicke R, Reif W. Enzymatic inactivation of isonicotinic acid hydrazide in human and animal organism. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1953;220:321-3.
- Rieder MJ, Shear NH, Kanee A et al. Prominence of slow acetylator phenotype among patients with sulfonamide hypersensitivity reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1991;49:13-7.
- Smith CA, Wadelius M, Gough AC et al. A simplified assay for the arylamine N-acetyltransferase 2 polymorphism validated by phenotyping with isoniazid. *J Med Genet* 1997;34:758-60.
- Hein DW, Ferguson RJ, Doll MA et al. Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase enzymatic analysis of 15 recombinant wild type, mutant, and chimeric NAT2 allozymes. *Hum Mol Genet* 1994;2:729-34.
- Cascorbi I, Brockmoller J, Bauer S et al. NAT2*12A (803A—G) codes for rapid arylamine N-acetylation in humans. *Pharmacogenetics* 1996;6:257-9.
- Cascorbi I, Roots I. Pitfalls in N-acetyltransferase2 genotyping. *Pharmacogenetics* 1999;9:123-7.
- Vatsis KP, Weber WW, Bell DA et al. Nomenclature for N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 1995;5:1-17.
- Vatsis KP, Martell KJ, Weber WW. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6333-7.
- Blum M, Grant DM, McBride W et al. Human arylamine N-acetyltransferase genes, isolation, chromosomal localization and functional expression. *DNA Cell Biol* 1990;9:193-203.
- Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmoller J et al. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals, correlation with phenotypic activity. *Am J Hum Genet* 1995;57:581-92.
- Grant DM. Molecular genetics of the N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 1993;3:45-50.
- Hickman D, Risch A, Camilleri JP, Sim E. Genotyping human polymorphic arylamine N-acetyltransferase, identification of new slow allelic variants. *Pharmacogenetics* 1992;2:217-26.
- Mrozikiewicz PM, Cascorbi I, Brockmoller J, Roots I. Determination and allelic allocation of seven nucleotide transition within the arylamine N-acetyltransferase (NAT2) gene in the Polish population. *Clin Pharmacol Ther* 1996;59:376-82.
- Aynacioglu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Roots I. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotypes in a Turkish population. *Pharmacogenetics* 1997;7:327-31.
- Patkowski J, Malolepszy J, Milejski P et al. Acetylation phenotype in the atopic allergy.(Polish). *Pol Tyg Lek* 1987;42:870-3.
- Gawronska-Szklarz B, Luszawska-Kutrzeba T, Czaja-Bulsa G, Kurzawski G. Relationship between acetylation polymorphism and risk of atopic diseases. *Clin Pharmacol Ther* 1999;65:562-9.
- Zielinska E, Niewiarowski W, Bodalski J et al. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) gene mutations in children with allergic diseases. *Clin Pharmacol Ther* 1997;62:635-42.
- Ceyhan BB, Celikel T. Effect of inhaled heparin on methacholine-induced bronchial hyperreactivity. *Chest* 1995;107:1009-12.
- Mrozikiewicz PM, Drakoulis N, Roots I. Polymorphic arylamine N acetyltransferase (NAT2) genes in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther* 1994;56:626-34.
- Lin HJ, Han CY, Lin BK, Hardy S. Slow acetylator mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 asians, blacks, hispanics, and whites; application to metabolic epidemiology. *Am J Hum Genet* 1993;52:827-34.
- Agundez JA, Martinez C, Olivera M et al. Molecular analysis of the arylamine N-acetyltransferase polymorphism in a Spanish population. *Clin Pharmacol Ther* 1994;56:626-34.
- Graf T, Broly F, Hoffmann F et al. Prediction of phenotype for acetylation and for debrisoquine hydroxylation by DNA tests in healthy human volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1992;43:399-403.
- Grant DM, Tang BK, Kalow W. A single test for acetylator phenotype using caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 1984;17:459-64.
- Bechtel YC, Bonaiti-Pellie C, Poisson N et al. A population and family study of N-acetyltransferase using caffeine urinary metabolites. *Clin Pharmacol Ther* 1993;54:134-41.
- Weber WW, Hein DW. N-acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol Rev* 1985;37:25-79.
- Schnuch A, Westphal GA, Muller MM et al. Genotype and phenotype of N-acetyltransferase2 (NAT2) polymorphism in patients with contact allergy. *Contact Dermatitis* 1998;38:209-11.
- Cascorbi I, Roots I. Pitfalls in N-acetyltransferase2 genotyping. *Pharmacogenetics* 1999;9:123-7.
- Endo Y. Elevation of histamine levels in rat and mouse tissue by deacetylation of administered N-acetylhistamine. *Eur J Pharmacol* 1979;60:299-305.
- Crimi N, Polosa R, Magri S et al. Inhaled lysine acetylsalicylate (L-ASA) attenuates histamine-induced bronchoconstriction in asthma. *Allergy* 1996;51:157-63.
- Dyduch A, Geisler G, Pieniazek W et al. Physiological and pathophysiological role of histamine in the gastrointestinal tract. *Pediatr Pol* 1996;71:391-5.
- Nacac M, Aynacioglu AS, Filiz A et al. Association between N-acetylation genetic polymorphism and bronchial asthma. *Br J Clin Pharmacol* 2002;54:671-4.