

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР «ИНСТИТУТ  
ФАРМАКОЛОГИИ И БИОХИМИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ  
НАУК БЕЛАРУСИ»**

**УДК 616.348-002.44-085:615.276:615.355**

**САТЫРОВА  
ТАТЬЯНА ВИКТОРОВНА**

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ  
СУЛЬФАСАЛАЗИНА У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АКТИВНОСТИ N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ 2**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология**

**Минск, 2011**

Работа выполнена в Учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:** **Михайлова Елена Ивановна,**  
доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой общей и клинической фармакологии с курсом анестезиологии и реаниматологии УО «Гомельский государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:** **Кевра Михаил Константинович,**  
доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Пиманов Сергей Иванович,**  
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии №2 ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

**Оппонирующая организация:** ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита состоится 29 июня 2011 г. в 15.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.30.01 при ГУ «Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси» по адресу: 220141, г. Минск, ул. Академика В.Ф. Купревича, 2. (e-mail: nicolarisa@tut.by, тел. +375(017)2674672).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ «Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»

Автореферат разослан «\_\_\_» мая 2011 г.

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций,  
кандидат биологических наук, доцент



Л. Н. Николаевич

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы внимание многих исследователей сосредоточено на изучении роли ферментативных систем метаболизма в биотрансформации различных лекарственных препаратов [В. Баранов, 2000; В. Г. Кукес, А. К. Стародубцев, 2004]. Известно, что основным путем метаболизма широкого ряда гидразиновых и ариламиновых лекарственных средств и ксенобиотиков, включая канцерогены, является N-ацетилирование при участии фермента N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2). Научные исследования показали, что по активности NAT2 человеческую популяцию можно разделить на 2 группы: с фенотипом быстрого и медленного N-ацетилирования [J. Brokmuller, I. Roots, 1994; J.N. Pande, A. Pande, S.P.N. Singh, 2003; S. Marsh, D.J. van Booven, H.L. McLeod, 2006; О.О. Яковлева с соавт., 1999]. N-ацетилтрансфераза 2 проявляет типичный генетический полиморфизм, поскольку быстрый и медленный фенотипы ассоциированы с определенным генотипом NAT2 гена. В настоящее время изучается значительное число мутаций в гене NAT2, которые могут приводить к проявлению медленного фенотипа N-ацетилирования [R.R. Freimuth с соавт., 2005; S. Marsh, D.J. van Booven, H.L. McLeod, 2006; В.Г. Кукес, 2004]. Активно исследуется связь полиморфизма ферментов NAT2 с различными заболеваниями и чувствительностью к лекарственным препаратам [В.М. Silber с соавт., 2001; D.A. Sychev с соавт., 2006; О.А. Яковлева с соавт., 2000; И.В. Голденкова-Павлова с соавт., 2006]. Тем не менее, проблема полиморфизма гена NAT2, по-прежнему, сохраняет свою актуальность, так как многие ее аспекты изучены не достаточно, а полученные результаты зачастую противоречивы. Острота проблемы усугубляется также разнообразным составом генофонда отдельных популяций в различных географических зонах земного шара, в которых фено- и генотипические различия представляются в настоящее время весьма значительными [M. Pirmohamed с соавт. 2000; M. Pirmohamed, 2001; В.В. Баранов, 2000; Н.И. Калетина, 2008].

Язвенный колит (ЯК) является одной из наиболее сложных и нерешенных проблем в современной гастроэнтерологии. Ее медико-социальное значение определяется как вкладом ЯК в патологию социально активного возраста, так и постоянно растущими затратами на его диагностику и лечение [И.В. Никулина с соавт., 1997; Е.А. Белоусова, 2002; Г.А. Григорьева, 2005; Ю.В. Горгун, А.С. Портянко, 2009]. В последние годы, благодаря разработке новейших генетических, иммуногистохимических, эндоскопических и рентгенологических методов исследования, в развитии представлений о ЯК достигнуты несомненные успехи. Тем не менее, этиология и патогенез заболевания, по мнению большинства гастроэнтерологов, по-прежнему, остаются не достаточно изученными [R.V. Sarton, 1997; T. Ahmad с соавт., 2001; M. Pieric с соавт., 2006; Е.Ю. Валуйских с соавт., 2009, Ю.В. Горгун, А.С. Портянко, 2009]. Несмотря на то, что для лечения ЯК предложены новые эффективные группы лекарственных препаратов, в том числе лекарства биологического происхождения, недостаток наших знаний о причинах и механизмах развития заболевания обусловил отсутствие этиотропных методов терапии [T. Ahmad с соавт., 2001; В.А. Косенко, И.В. Сарвилина, 2007]. По этой

причине повышение эффективности уже хорошо проверенных клинической практикой и недорогих лекарственных средств сохраняет свою актуальность [О.С. Шифрин, С.Ф. Галимова, 2005].

В настоящее время одним из базисных лекарственных препаратов в лечении ЯК является сульфасалазин. Проведенные в 60-х годах прошлого века крупные контролируемые исследования продемонстрировали его высокую эффективность в лечении ЯК легкой и средней степени тяжести. Доказано, что клиническое улучшение при использовании сульфасалазина наступало у 64–80 % больных, в то время как назначение плацебо приводило к положительному эффекту только в 30–40 % случаев. Контролируемые исследования показали, что клинический эффект лекарственного средства являлся дозозависимым. В то же время высокие суточные дозы сульфасалазина в 20–50 % случаев способствовали развитию тяжелых побочных эффектов лекарственной терапии [Ц.Г. Масевич, 2001; Е.Л. Насонов, 2002; О.С. Шифрин, С.Ф. Галимова, 2005]. Такое соотношение эффективности и безопасности лекарственного средства явилось основной причиной того, что до настоящего времени многие исследователи продолжают искать новые обоснованные фармакологические подходы к его применению.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами**

Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы Белорусского Республиканского фонда фундаментальных исследований «Изучить влияние ацетиляторного фенотипа на эффективность лекарственной терапии язвенного колита», утверждена Государственным учреждением «Белорусский институт системного анализа», № государственной регистрации 20091630 от 30.07.2009 г., срок выполнения 15.04.2009 г. – 31.03.2011 г.

### **Цель и задачи исследования**

Цель работы: оптимизировать с учетом активности N-ацетилтрансферазы 2 эффективность и безопасность сульфасалазина в лечении пациентов с язвенным колитом.

Задачи исследования:

1. Изучить распределение и взаимосвязь активности NAT2 и фенотипов N-ацетилирования у волонтеров Юго-Восточного региона Республики Беларусь и пациентов с язвенным колитом.

2. Разработать способ расчета индивидуальной дозы лекарственного средства, метаболизирующегося посредством NAT2, для пациентов с быстрым и медленным фенотипом N-ацетилирования.

3. Оценить точность прогноза ацетиляторного статуса по одновременной оценке 5 однонуклеотидных замен в гене NAT2 и изучить влияние полиморфных вариантов гена NAT2 на предрасположенность к развитию язвенного колита.

4. Проанализировать безопасность сульфасалазина с учетом субъективных и объективных критериев и его эффективность с учетом субъективных, объективных, эндоскопических и гистологических критериев в лечении пациентов с язвенным колитом с различным ацетиляторным фенотипом.

5. Исследовать влияние сульфасалазина на возникновение молекулярно-биологических и цитогенетических изменений в гомеостазе системы крови у пациентов с язвенным колитом при различных фенотипах N-ацетилирования.

В соответствие с поставленными целью и задачами *объектом исследования* явились пациенты с язвенным колитом и клинически здоровые лица.

*Предметом исследования* стали эффективность и безопасность сульфасалазина в лечении пациентов с язвенным колитом в зависимости от активности NAT2.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. У волонтеров Юго-Восточного региона Республики Беларусь и пациентов с язвенным колитом медленный фенотип N-ацетилирования преобладает и составляет 66 и 80 % соответственно. Фенотип N-ацетилирования не является предиктором развития ЯК. Однако у больных язвенным колитом по сравнению со здоровыми добровольцами имеет место более низкая активность фермента NAT2.

2. Индивидуальное отношение (r) концентраций ацетизониазида и изо-ниазида отражает активность NAT2 и может быть использовано для расчета эффективной и безопасной дозы лекарственного средства для пациентов с быстрым и медленным фенотипом N-ацетилирования.

3. Одновременная оценка 5 однонуклеотидных замен в гене NAT2 повышает точность прогноза ацетиляторного статуса, но не позволяет однозначно предсказать фенотип ацетилирования и может быть использована в отличие от него только для выявления предикторов заболевания. Полиморфные варианты T341C, G590A, G857A, C282T, C481T гена NAT2 не влияют на генетическую предрасположенность к развитию язвенного колита.

4. У пациентов с язвенным колитом высокая активность NAT2 снижает эффективность сульфасалазина с учетом субъективных, объективных, эндоскопических и гистологических критериев, дефицит фермента при использовании лекарственного средства приводит к развитию различных по симптоматике субъективных и объективных нежелательных явлений.

5. Молекулярно-биологические и цитогенетические изменения в гомеостазе системы крови свидетельствуют о неспособности стандартных доз сульфасалазина эффективно воздействовать на патогенез заболевания у больных язвенным колитом с быстрым фенотипом N-ацетилирования и приводит к развитию цито- и генотоксичных нежелательных явлений у больных язвенным колитом с медленным фенотипом N-ацетилирования.

### **Личный вклад соискателя**

Аспирантом совместно с научным руководителем определены тема и методическое решение диссертационного исследования, установлены цель и

задачи работы, выбраны методы и обозначен объем диссертационного исследования. Аспирантом самостоятельно изучены и представлены в статьях литературные и патентные источники по теме диссертации с анализом современных знаний о роли NAT2 в биотрансформации ксенобиотиков, о значении различных факторов в развитии язвенного колита и о проблемах фармакотерапевтических подходов к его лечению [1, 4, 6, 12, 15]. Автором лично выполнены отбор, клиническое обследование и наблюдение за пациентами. Аспирантом самостоятельно осуществлены статистическая и графическая обработка полученных данных, их интерпретация, теоретическое обобщение результатов и написание работы.

Автор являлся руководителем темы научно-исследовательской работы Белорусского Республиканского фонда фундаментальных исследований, в рамках которой выполнено настоящее исследование.

В статьях аспирантом описано распределение фенотипа N-ацетилирования у здоровых добровольцев и пациентов с язвенным колитом [2–4, 12, 13, 15]. Определены полиморфные варианты гена NAT2, проведен сравнительный анализ результатов фено- и генотипирования у здоровых добровольцев и больных язвенным колитом [9]. В зависимости от активности N-ацетилтрансферазы 2 у пациентов с язвенным колитом проанализированы характер и частота встречаемости клинических побочных явлений сульфасалазина [3, 4, 8, 13, 15]. В лечении рецидивов язвенного колита у больных с различным ацетилирующим фенотипом оценена эффективность лекарственного средства с учетом субъективных, объективных, эндоскопических и гистологических критериев [5, 7, 14, 16]. В зависимости от скорости реакций N-ацетилирования на фоне лечения сульфасалазином в клетках периферической крови у пациентов с язвенным колитом изучено наличие молекулярно-биологических и цитогенетических изменений [10, 11].

На основании проведенного исследования предложен метод определения ацетилирующего фенотипа по активности NAT2 в сыворотке крови (инструкция по применению № 094-0710 от 29.12.2010 г.) [17]. Внедрение разработанного метода осуществлено в учреждении «Гомельская областная клиническая больница», учреждении «Гомельская областная специализированная клиническая больница», учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет». Предложен способ индивидуализации терапии у пациентов с быстрым и медленным фенотипом N-ацетилирования (удостоверение на рационализаторское предложение № 1067 от 07.12.2009 г.). Внедрение разработанного способа осуществлено в учреждении «Гомельская областная клиническая больница», учреждении «Гомельская областная специализированная клиническая больница», учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет». Предложен способ гистологической оценки степени тяжести язвенного колита (удостоверение на рационализаторское предложение № 1086 от 10.05.2010 г.). Внедрение разработанного способа осуществлено в учреждении «Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро», учреждении «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро», учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет». Суммарное доленое участие автора в публикациях по теме диссертации составило 7,1 авторских листов (82,6 %).

Соавторами публикаций оказана научно-методическая помощь при организации исследования и обсуждении полученных результатов (Е. И. Михайлова), отборе пациентов и здоровых добровольцев (В. Р. Тимашова), проведении молекулярно-биологических и цитогенетических исследований на образцах периферической крови (В.Ю. Афонин), оценке гистологической активности язвенного колита (Э.А. Надыров), статистическом анализе распределения фенотипа N-ацетилирования в популяции и у пациентов с язвенным колитом (Н.Б. Осипенко).

Автор выражает признательность и приносит благодарность заместителю директора по научной работе Унитарного предприятия «Минскинтеркапс» к.ф.н. Н.А. Алексееву за помощь в формировании методики определения концентраций свободного и ацетилированного изониазида в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), коллективу и лично заведующему Центральной научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет», к.м.н. Е.В. Воропаеву за проведение исследований по генотипированию гена NAT2, коллективу и лично заведующему лаборатории фармакогенетики Государственного учреждения «Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии Национальной Академии Наук Республики Беларусь» к.б.н. В.Ю. Афонину за содействие в изучении молекулярно-биологических и цитогенетических изменений в клетках системы крови.

### **Апробация результатов диссертации**

Результаты исследования докладывались на заседаниях Республиканских научно-практических конференций «Актуальные проблемы медицины» 17-й (2008 г.), 18-й (2009 г.) и 19-й (2010 г.) научных сессий учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет», Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии» (2010 г., г. Гомель), Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты медицины и фармации – 2010» (2010 г., г. Запорожье), 64-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины» (2010 г., г. Минск).

### **Опубликованность результатов**

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе статей в научных журналах, соответствующих пункту 18 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий» – 11 (5,61 авторских листов), статей в рецензируемых научных сборниках – 3 (0,60 авторского листа), материалов конференций, съездов и симпозиумов – 2 (0,40 авторского листа). В единоличном авторстве опубликованы 2 печатные работы.

По теме диссертации утверждена 1 инструкция по применению.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из 4 глав, заключения, библиографического списка и 2 приложений. Полный объем диссертации включает 136 страниц компьютерного текста, содержит 12 таблиц и 33 иллюстрации (44 страницы). Раздел «Библиографический список» содержит два подраздела: «Список использованных источников», включающий 284 работы (61 – на русском языке и 223 – на иностранных языках), и «Список публикаций соискателя», в котором приводится 17 работ автора по теме диссертации (23 страницы).

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В проспективном рандомизированном сравнительном исследовании принимали участие 248 пациентов. Группу исследования I составляли 79 больных ЯК, группу исследования II – 42 пациента с активным ЯК, группу сравнения – 33 больных ЯК в отсутствие любой лекарственной терапии по поводу данной или какой-либо иной патологии; группу контроля I и II – 129 и 40 здоровых добровольцев (ЗД), соответственно. Рандомизация проводилась методом случайной стратифицированной выборки.

Критерии включения:

1. Мужчины или небеременные и некормящие грудью женщины в возрасте 18 лет и старше (у женщин в детородном возрасте до рандомизации должен быть получен отрицательный тест на беременность).
2. Подтвержденный документально диагноз ЯК.
3. Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения:

1. Терапия любыми лекарственными средствами за исключением сульфасалазина в течение трех месяцев, предшествующих исследованию.
2. Гиперчувствительность к препаратам гидразида изоникотиновой кислоты и 5-аминосалициловой кислоты в анамнезе.
3. Наличие тяжелых соматических заболеваний, несвязанных с ЯК.
4. Резистентность к лечению ЯК препаратами 5-аминосалициловой кислоты в анамнезе.

Дизайн исследования:

1. В одномоментном (поперечном) исследовании распределения и взаимосвязи активности NAT2, а также гено- и фенотипического полиморфизма фермента у жителей Юго-Восточного региона Республики Беларусь и пациентов с ЯК участвовало 79 больных с этой патологией и 129 здоровых добровольцев.
2. В одномоментном (продольно-поперечном) исследовании влияния ацетиляторного статуса на безопасность сульфасалазина в лечении пациентов

с ЯК участвовало 72 больных с этой патологией и 40 здоровых добровольцев. Анализ безопасности фармакотерапии пациентов с ЯК проводился путем регистрации субъективных и объективных нежелательных реакций, развившихся на фоне приема сульфасалазина. Такими нежелательными реакциями являлись все случаи неблагоприятного ответа на прием препарата вне зависимости от его дозы и сроков лечения. При оценке нежелательных явлений осуществлялись сбор жалоб и физикальное обследование пациентов. Побочные эффекты классифицировались по степени тяжести на легкие (вызывали дискомфорт, но не препятствовали обычной повседневной активности), средней тяжести (вызывали дискомфорт, ограничивающий обычную повседневную активность или влияющие на нее) и тяжелые (характеризовались недееспособностью пациента, ведущей к невозможности выполнения работы или осуществления обычной повседневной активности).

3. В проспективном рандомизированном исследовании эффективности сульфасалазина в лечении рецидивов ЯК в зависимости от ацетилаторного фенотипа исследованы 42 пациента с этой патологией. Для оценки активности заболевания использовался индекс активности ЯК Шредера (Mayo Clinic UC DAI), который представлял собой сумму 4 компонентных шкал: частоты стула, ректального кровотечения, гибкой сигмо- или колоноскопии, общей оценки врачом. По каждой шкале давалась оценка от 0 до 3 баллов. Минимальная активность ЯК соответствовала 4–5 баллам, умеренная активность – 6–10 баллам, высокая активность – >10 баллам [Ю.Х. Мараховский с соавт., 2008]. В исследовании эффективности сульфасалазина в лечении рецидивов ЯК включались пациенты с минимальной и умеренной степенью активности заболевания. Эффективность сульфасалазина оценивалась по клиническим (субъективным и объективным данным), эндоскопическим и гистологическим критериям до и после 2-х недельной терапии сульфасалазином. Доза препарата определялась активностью воспалительного процесса в толстой кишке. При минимальной активности ЯК пациенты получали 4,0 г сульфасалазина в сутки, при умеренной активности – 6,0 г в сутки. Конечными точками при оценке эффективности сульфасалазина в лечении рецидивов ЯК являлись [М.А. Kamm с соавт., 2006; М.А. Kamm с соавт., 2007]:

1. Количество пациентов с клинической и эндоскопической ремиссией после 2 недель терапии сульфасалазином. Клинической и эндоскопической ремиссией считалась оценка по шкале Шредера (Mayo Clinic UC DAI)  $\leq 1$  в сочетании с оценкой 0 для частоты стула и ректального кровотечения, отсутствием императивных позывов на дефекацию и снижением оценки по сигмоидоскопической шкале минимум на 1 балл по сравнению с исходным уровнем.

2. Количество пациентов с клинической ремиссией после 2 недель терапии сульфасалазином. Клинической ремиссией считалась оценка 0 для частоты стула и ректальных кровотечений, а также отсутствие императивных позывов к дефекации.

3. Количество пациентов с клиническим улучшением после 2 недель терапии сульфасалазином. Клиническим улучшением считалось снижение оценки по шкале Шредера (Mayo Clinic UC DAI), по меньшей мере, на 3 балла по сравнению с исходным уровнем.

Здоровые добровольцы не имели клинических симптомов каких-либо заболеваний, не подвергались хирургическим вмешательствам и не состояли в родстве. Всем пациентам с ЯК проводили эндоскопическое обследование толстой кишки (фиброколоноскопию/сигмоскопию) со взятием биопсии (не менее 2–4 биоптатов). Для исключения кишечных и паразитарных инфекций кроме рутинного анализа фекалий [Т.Д. Звягинцева, С.В. Гриднева, 2006] выявляли наличие в фекалиях пациентов антигенов токсинов A/B Clostridium difficile с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) наборами «Ridascreen Clostridium difficile Toxine A/B» фирмы «R-Biopharm AG», Германия.

При гистологической оценке изменений в слизистой оболочке толстой кишки использовались собственные критерии, разработанные на основе шкалы К. Geboes [К. Geboes, 2000]. При оценке препаратов в микроскопе анализировали пролиферацию и дифференцировку эпителия крипт, нейтрофильную и лимфоцитозитарную инфильтрацию, наличие эрозивно-язвенных дефектов и состояние ее микроциркуляторного русла слизистой оболочки. Анализ критериев осуществляли визуально-полуколичественно. Биоптаты фиксировали в 10% растворе формалина, после обезвоживания заливали в парафин. Гистологический анализ срезов проводили после окрашивания гематоксилином и эозином.

Молекулярно-биологический анализ клеток периферической крови проводился методом проточной ДНК-цитометрии и состоял из определения клеточного цикла (G0/G1, S и G2+M), частоты микроядер (оценки мутагенного давления) и уровня апоптоза (числа гиподиплоидных клеток). В качестве флуоресцентного зонда использовался пропидиум йодид фирмы «Sigma», США. Образцы (не менее 30 000 клеток) анализировались на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter», США, оборудованном программой «MultiCycle».

Наличие и частота встречаемости клеток с микроядрами, а также другие цитогенетические нарушения (кариорексис, кариолизис и вакуолизация ядра, цитоплазмы и мембраны) в клетках периферической крови изучались методом световой микроскопии на микроскопе «Leica DM 4000 B» с фотокамерой «Leica DFC480» фирмы «Leica Microsystems Ltd», Германия. Подготовка мазков периферической крови состояла из размазывания капли по обезжиренному стеклу, подсушивания и фиксирования этанолом. Мазки периферической крови окрашивали по Романовскому-Гимза. На каждом стекле подсчитывали не менее 1000 клеток.

Фенотип N-ацетилирования определялся как скорость ацетилирования изониазида (INH) и рассчитывался как отношение ацетизониазида (AcINH) к INH. Тестовая доза препарата составляла 10 мг на 1 кг массы тела пациента. Количественное определение содержания INH и его метаболита AcINH производили в 3-часовых образцах сыворотки крови на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» с диодно-матричным детектором. Для разделения фаз использовалась стальная колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная октилсилисиликагелем «Zorbax SB C8» фирмы «Agilent Technologies», США-Германия.

Изучение полиморфизма фрагмента гена NAT2 выполнялось с помощью метода полимеразной цепной реакции путем анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ампликонов (ПДРФ-анализ). Выделение

ДНК из образцов цельной крови проводилось с помощью коммерческого набора «Genomic DNA Purification Kit» фирмы «Fermentas», Литва. Полимеразная цепная реакция выполнялась при использовании смеси «DreamTaqT Green PCR Master Mix (2X)» фирмы «Fermentas», Литва. Все рестриктазы произведены фирмой «Fermentas», Литва. Обозначение однонуклеотидных замен (SNP) использовалось соответствие с номенклатурой Генного Банка NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась в операционной среде «WINDOWS-XP» с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0» и «POPGEN 32», США, «MEDCALC», Бельгия и «МОНАДА», Республика Беларусь. Соответствие распределения количественных признаков закону нормального распределения оценивалось с помощью тестов Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении признака вычислялись среднее арифметическое значение (M) и среднее квадратическое отклонение (s), при ненормальном распределении – медиана (Me) и 95%-ный доверительный интервал (95%ДИ). При анализе первичных данных сравнение по количественному или качественному (порядковому) признаку запланированных независимых выборок производилось с помощью теста U Манна-Уитни, по качественному (бинарному) признаку независимых выборок – двустороннего теста точного критерия Фишера,  $\chi^2$  и  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность вариации, зависимых – критерия МакНемара [О.Ю. Реброва, 2006]. Оценка взаимосвязи количественных и/или качественных признаков производилась с помощью ранговой корреляции по Кендаллу с определением коэффициента ранговой корреляции ( $\tau$ ). Для оценки эмпирической функции плотности распределения количественного признака использовалась «ядерная» аппроксимация [Д.В. Гаскаров, В.И. Шаповалов, 1978], теоретической функции плотности распределения – программа расщепления смеси «Монада», разработанная Н.Б. Осипенко с соавт. (2004) на основе метода С.А. Айвазяна (1989). Статистически значимыми считались различия при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении фенотипирования по гену NAT2 оценка эмпирической и теоретической функции плотности распределения отношений концентраций AcINH и INH (R) показала наличие у волонтеров из Юго-Восточного региона Республики Беларусь тримодального распределения фенотипов N-ацетилирования, характеризующегося 3 интервалами отношения R: (0-0,28]; [0,28-0,37]; [0,37-1), представленными на рисунке 1.

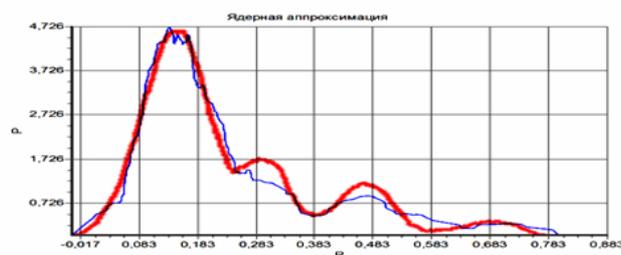
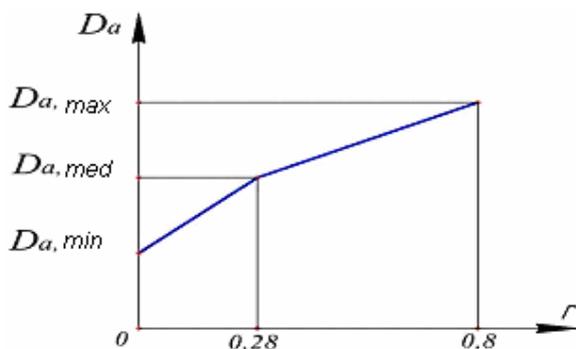


Рисунок 1 – Оценка эмпирического и теоретического распределения отношений (R) у здоровых добровольцев

Медленный ацетиляторный фенотип установлен у 91 (71,0 %) из 129 здоровых добровольцев, быстрый фенотип – у 25 (19,0 %), промежуточный – у 13 (10,0 %) волонтеров.

Опираясь на 3 интервала на оси отношения R, построен график линейно-кусочной функции, отражавший зависимость дозы лекарственного средства от активности NAT2 (рисунок 2).



Примечание – Здесь и далее  $D_{a,min}$  – минимальная терапевтическая доза лекарственного средства  $a$ ,  $D_{a,max}$  – максимальная терапевтическая доза лекарственного средства  $a$ ,  $D_{a,med}$  – средняя терапевтическая доза лекарственного средства  $a$ .

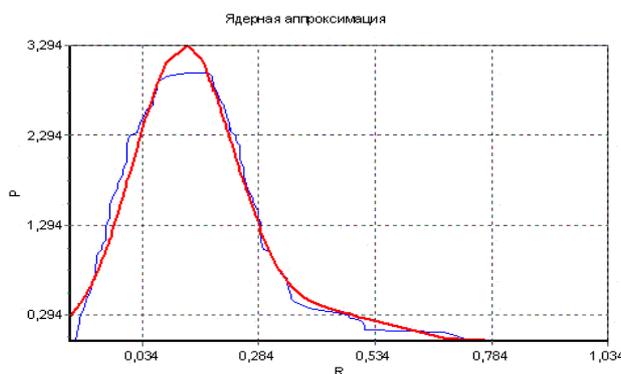
**Рисунок 2 – Зависимость дозы лекарственного средства от активности NAT2**

График линейно-кусочной функции описан с помощью формулы, которая позволила рассчитывать индивидуальную дозу лекарственного средства:

$$D_a(r) = \begin{cases} 0, & \text{если } r < 0,28 \text{ и лекарственное средство } a \text{ токсично,} \\ 0, & \text{если } r > 0,37 \text{ и лекарственное средство } a \text{ не эффективно,} \\ \text{иначе} \\ D_{a,min} + (D_{a,med} - D_{a,min}) \cdot r/0,28, & \text{если } r \leq 0,28 \\ D_{a,med} + (D_{a,max} - D_{a,med}) \cdot (r - 0,28)/0,52, & \text{если } r > 0,28 \end{cases}$$

Отношение концентраций AcINH и INH ( $r$ ) отражало индивидуальную активность NAT2 у пациента и устанавливало эффективную и безопасную дозу лекарственного средства.

У пациентов с ЯК установлено бимодальное распределение ацетиляторного фенотипа, характеризующееся 2 интервалами отношения R: (0-0,27]; [0,27-1), представленными на рисунке 3.



**Рисунок 3 - Оценка эмпирического и теоретического распределения отношений (R) у пациентов с ЯК**

Медленный ацетиляторный фенотип установлен у 63 (79,70 %) из 79 больных, быстрый фенотип – у 16 (20,30 %) пациентов.

У здоровых добровольцев и пациентов с ЯК достоверные статистические различия в распределении быстрых и медленных фенотипов N-ацетилирования не установлены ( $p=0,19$ ). Тем не менее, у больных ЯК по сравнению со здоровыми добровольцами выявлена более низкая активность фермента NAT2 ( $Me=0,14$ , 95%ДИ:0,11-0,16,  $Me=0,19$ , 95%ДИ:0,16-0,21,  $p=0,0004$ ).

Вычисление теоретической функции плотности распределения выявило соотношение фенотипов N-ацетилирования в популяции европеоидов Юго-Восточного региона Республики Беларусь. Распределение быстрых и медленных ацетиляторов отвечало большинству европейских показателей ( $\approx 40$  и  $60$  %, соответственно) и составляло 34 и 66 %, соответственно [С.В. Ambrosone с соавт., 1996; Н.Р. Rihs с соавт., 2007; С.Ю. Гармонов с соавт., 2005].

При проведении генотипирования по гену NAT2 обнаружено отсутствие ассоциации полиморфных вариантов T341C, G590A, G857A, C282T, C481T с предрасположенностью к развитию ЯК (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение генотипов полиморфных вариантов гена NAT2 у пациентов с ЯК и здоровых добровольцев

Генотип	ЯК		Здоровые добровольцы		$\chi^2$ , p
	количество	частота	количество	частота	
G857A					
GG	44	0,957	28	0,933	0,005; 0,95
GA	2	0,043	2	0,067	0,005; 0,95
C481T					
CC	20	0,435	10	0,333	0,421; 0,52
CT	18	0,391	15	0,500	0,491; 0,48
TT	8	0,174	5	0,167	0,054; 0,82
C282T					
CC	21	0,456	15	0,500	0,20; 0,89
CT	21	0,456	12	0,400	0,06; 0,81
TT	4	0,088	3	0,100	0,052; 0,82
T341C					
TT	17	0,370	10	0,333	0,007; 0,93
TC	22	0,478	15	0,500	0,002; 0,96
CC	7	0,152	5	0,167	0,021; 0,88
G590A					
GG	23	0,500	16	0,533	0,002; 0,96
GA	19	0,413	12	0,400	0,016; 0,90
AA	4	0,087	2	0,067	0,014; 0,91

Мутантные аллели имели место при любой активности NAT2, однако присутствие 4 SNP с высокой долей вероятности указывало на наличие медленного фенотипа N-ацетилирования (таблица 2).

Таблица 2 – Частота встречаемости полиморфных вариантов гена NAT2 у быстрых и медленных ацетиляторов в группе здоровых добровольцев

Количество SNP	Быстрые ацетиляторы	Медленные ацетиляторы	p
0	2 (22,22%)	0	0,08
2	7 (77,78%)	6 (28,57%)	0,02
4	0	15 (71,43%)	0,0007

Исследование безопасности сульфасалазина показало, что прием лекарственного средства у больных ЯК приводил к появлению различных клинических нежелательных явлений. Риск развития побочных реакций у больных ЯК увеличивал медленный фенотип N-ацетилирования (таблица 3).

Таблица 3 – Частота клинических нежелательных явлений у больных ЯК на фоне лечения сульфасалазином

Побочные эффекты	Больные ЯК		p1	Быстрые ацетиляторы с ЯК	Медленные ацетиляторы с ЯК	p2
	сульфасалазин					
	+	–				
Головная боль	36,11%	13,33%	0,03	0%	45,61%	0,001
Тошнота	19,44%	0%	0,02	0%	24,56%	0,03
Рвота	2,78%	0%	1,0	0%	3,51%	1,0
Слабость	20,83%	0%	0,005	0%	26,32%	0,03
Головокружение	22,22%	0%	0,003	0%	28,07%	0,03
Сухость во рту	19,44%	0%	0,009	0%	24,56%	0,03
Боль в животе	22,22%	0%	0,03	0%	28,07%	0,03
Зуд кожи	2,78%	0%	1,0	0%	3,51%	1,0
Всего	52,78%	23,33%	0,01	0%	66,67%	<0,0001

При изучении эффективности сульфасалазина установлено, что лекарственное средство показало результативность в индукции клинической и клинко-эндоскопической ремиссии в общей группе пациентов с рецидивом ЯК за счет больных с медленным ацетиляторным фенотипом. В достижении клинического улучшения сульфасалазин обнаружил результативность во всех группах пациентов с ЯК независимо от их ацетиляторного статуса (таблица 4).

Таблица 4 – Эффективность сульфасалазина в лечении пациентов с рецидивом ЯК

Конечная точка	Больные ЯК n=42	Медленные ацетиляторы с ЯК n=33	Быстрые ацетиляторы с ЯК n=9
Клиническая ремиссия	27 (64,29%) p<0,0001	23 (69,70%) p=0,13	4 (44,44%) p<0,0001
Клинко-эндоскопическая ремиссия	24 (57,14%) p<0,0001	22 (66,67%) p=0,48	2 (22,22%) p<0,0001
Клиническое улучшение	39 (92,86%) p<0,0001	30 (90,91%) p<0,0001	9 (100,0%) p=0,0039

Исследование воздействия 2-недельного курса терапии сульфасалазином на динамику гистологических признаков воспалительного процесса

показало, что у пациентов с ЯК за счет больных с медленным ацетиляторным фенотипом лекарственное средство приводило как к снижению, так и в ряде случаев к ликвидации морфологических проявлений активности воспаления по степени нейтрофильной инфильтрации, по уровню нарушений в микроциркуляторном русле, по количеству и глубине эрозивно-язвенных дефектов (таблица 5).

Таблица 5 – Гистологическая оценка морфологических изменений в слизистой оболочке толстой кишки у пациентов с рецидивом ЯК до и после лечения сульфасалазином

Признак	Степень	Больные ЯК			Быстрые ацетиляторы с ЯК			Медленные ацетиляторы с ЯК		
		до	после	р	до	после	р	до	после	р
		лечения			лечения			лечения		
Пролиферация эпителия крипт	0	15	16	1,0	3	3	1,0	12	13	1,0
	1	18	19		5	6		13	13	
	2	3	2		1	0		2	2	
	3	1	0		0	0		1	0	
Дифференцировка эпителия крипт	0	18	24	0,44	6	6	1,0	12	18	0,03
	1	17	13		3	3		14	10	
	2	2	0		0	0		2	0	
Полнокровие сосудов слизистой	0	3	6	0,001	1	1	0,13	2	5	0,02
	1	18	26		3	7		15	19	
	2	15	5		5	1		10	4	
	3	1	0		0	0		1	0	
Нейтрофильная инфильтрация	0	0	12	0,002	0	3	0,25	0	9	0,004
	1	24	21		3	2		21	19	
	2	8	3		3	3		5	0	
	3	5	1		3	1		2	0	
Лимфоплазматическая инфильтрация	0	0	0	0,034	0	0	0,25	0	0	0,02
	1	4	14		0	3		4	11	
	2	15	16		5	2		10	14	
	3	18	7		4	4		14	3	
Эрозии и язвы	0	12	28	0,018	1	6	0,06	11	22	0,001
	1	23	9		8	3		15	6	
	2	2	0		0	0		2	0	

При изучении влияния сульфасалазина на возникновение молекулярно-биологических и цитогенетических изменений в гомеостазе системы крови установлено, что в периферической крови у больных ЯК с разным ацетиляторным фенотипом на фоне приема лекарственного средства происходило уменьшение образования клеток с микроядрами и увеличение продукции клеток в S-фазе клеточного цикла. У больных ЯК с быстрым фенотипом N-ацетилирования стандартные дозы сульфасалазина не влияли на развитие патологического апоптоза и приводили к повышенной продукции неполноценных гиперсегментированных нейтрофилов. Апоптоз сопровождался модуляцией ингибиторного влияния сульфасалазина на клеточную пролиферацию посредством торможения G1-фазы кле-

точного цикла. У медленных ацетиляторов стандартные дозы сульфасалазина способствовали появлению четкой тенденции к прерыванию патологического апоптоза, что подтверждалось уменьшением образования гипосегментированных клеток и клеток с микроядрами. Снижение выживаемости клеток периферической крови вследствие приема сульфасалазина при низкой активности NAT2 у пациентов с ЯК происходило за счет блокирования S-фазы с ответным уменьшением количества клеток в G<sub>2</sub>-фазе клеточного цикла (таблица 6).

Таблица 6 – Основные молекулярно-биологические и цитогенетические показатели периферической крови у здоровых добровольцев и пациентов с ЯК (%; Ме, 95% ДИ)

Показатель	ЗД	Больные ЯК		Быстрые ацетиляторы с ЯК		Медленные ацетиляторы с ЯК	
		до	после	до	после	до	после
		лечения		лечения		лечения	
G1-фаза	97,49 96,4/98,11	98,17 94,6/99,8, p=0,20	98,47 95,7/99,4, p=0,19	98,49 47,3/100,0, p=0,29	98,89 95,0/99,5, p=0,008	98,16 93,9/100,0, p=0,31	97,0 92,9/100,0, p=0,78
S-фаза	0,0 0,0/0,0	0,0 0,0/0,0, p=0,11	0,0 0,0/0,67, p=0,001	0,08 0,0/52,68, p=0,02	0,10 0,0/1,21, p=0,01	0,0 0,0/0,0, p=0,52	0,0 0,0/4,26, p=0,004
G2-фаза	2,51 1,90/3,33	0,60 0,0/3,04, p=0,003	0,03 0,0/0,57, p<0,0001	0,0 0,0/1,64, p=0,0001	0,37 0,01/1,31, p=0,0001	1,13 0,0/5,62, p=0,16	0,0 0,0/0,68, p=0,0001
Пролиферирующие клетки	2,51 1,90/3,59	1,83 0,21/5,09, p=0,17	1,54 0,61/3,98, p=0,13	1,50 0,0/52,68, p=0,29	1,11 0,45/1,82, p=0,002	1,84 0,0/5,62, p=0,26	3,01 0,0/7,07, p=0,77
Микроядра	0,75 0,53/1,08	0,45 0,19/0,96, p=0,11	0,30 0,20/0,94, p=0,046	0,43 0,14/0,96, p=0,09	0,89 0,19/2,67, p=0,64	0,52 0,15/2,29, p=0,44	0,26 0,10/0,68, p=0,005
Апоптоз	5,53 3,41/10,45	2,90 2,42/3,93, p=0,002	8,84 3,1/18,06, p=0,008	6,33 2,15/12,01, p=0,02	6,19 1,90/3,61, p=0,04	15,25 2,37/23,2, p=0,006	5,42 3,30/11,61, p=0,009
Нейтрофилы с 2 сегментами ядра	17,24 12,39/20,35	21,13 17,44/24,20 p=0,03	17,60 15,71/19,65 p=0,75	21,98 10,91/26,65 p=0,19	13,80 4,28/19,85 p=0,26	20,69 17,43/24,22 p=0,049	18,05 16,15/20,35 p=0,42
Нейтрофилы с 4 и > сегментами ядра	8,57 5,72/13,76	17,65 12,80/20,36 p=0,001	15,34 13,44/18,31 p<0,0001	13,16 7,79/24,03 p=0,10	13,27 8,77/18,68 p=0,0002	18,10 13,19/21,53 p=0,001	16,06 13,62/20,55 p<0,0001

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты

1. Фенотип N-ацетилирования в группе волонтеров Юго-Восточного региона обнаружил тримодальное распределение и характеризовался 3 интервалами отношения R: (0-0,28]; [0,28-0,37]; [0,37-1). Медленный ацетиляторный

фенотип встречался в 71,00% случаев, промежуточный – в 10,00% случаев, быстрый – в 19,00% случаев. У пациентов с ЯК фенотип N-ацетилирования показал бимодальное распределение и имел 2 интервала отношения R: (0-0,27]; [0,27-1). Медленный фенотип N-ацетилирования обнаруживался в 79,70% случаев, а быстрый – в 20,30% случаев. Распределение быстрых и медленных ацетиляторов у больных ЯК не отличалось от такового у здоровых добровольцев. Тем не менее, у больных ЯК по сравнению со здоровыми добровольцами имела место более низкая активность фермента NAT2 (Me=0,19, 95%ДИ:0,16-0,21 и Me=0,14, 95%ДИ:0,11-0,16 соответственно) [1–4, 12, 13, 17].

2. Расчет эффективной и безопасной дозы лекарственного средства, метаболизирующегося посредством NAT2, для пациентов с быстрым и медленным фенотипом N-ацетилирования на основе 3 интервалов эмпирического распределения отношений (R) концентраций AcINH и INH отражал активность NAT2 у каждого конкретного пациента и был основан на индивидуальном отношении (r) концентраций AcINH и INH [2]:

$$D_a(r) = \begin{cases} 0, & \text{если } r < 0,28 \text{ и лекарственное средство } a \text{ токсично,} \\ 0, & \text{если } r > 0,37 \text{ и лекарственное средство } a \text{ не эффективно,} \\ \text{иначе} \\ D_{a,min} + (D_{a,med} - D_{a,min}) \cdot r/0,28, & \text{если } r \leq 0,28 \\ D_{a,med} + (D_{a,max} - D_{a,med}) \cdot (r - 0,28)/0,52, & \text{если } r > 0,28, \end{cases}$$

где  $D_{a,min}$  - минимальная терапевтическая доза лекарственного средства  $a$ ,  
 $D_{a,max}$  - максимальная терапевтическая доза лекарственного средства  $a$ ,  
 $D_{a,med}$  - средняя терапевтическая доза лекарственного средства  $a$ .

3. Мутантные аллели имели место при любой активности NAT2. По мере уменьшения активности фермента и увеличения вероятности медленного ацетиляторного фенотипа количество SNP в гене NAT2 возрастало. Присутствие 4 мутантных аллелей указывало на медленный фенотип N-ацетилирования.

Не доказано ассоциации полиморфных вариантов G857A (GG, GA), C481T (CC, CT, TT), C282T (CC, CT, TT), T341C (TT, TC, CC) и G590A (GG, GA, AA) гена NAT2 с развитием ЯК [9].

4. Сульфасалазин приводил к появлению клинических нежелательных явлений у пациентов с ЯК в 52,78% случаев. Больные чаще испытывали эпигастральную боль, тошноту, головную боль, слабость и сухость во рту. У медленных ацетиляторов по сравнению с быстрыми ацетиляторами частота клинических нежелательных проявлений была выше и составляла 66,67% и 0,00% соответственно.

Лекарственное средство в течение 2 недель позволяло достичь клинико-эндоскопической ремиссии ЯК в 57,14% случаев, клинической ремиссии – в 64,29% случаев и клинического улучшения – в 92,86% случаев. У медленных ацетиляторов сульфасалазин являлся более эффективным лекарственным средством, позволявшим добиться не только клинического улучшения, но и развития клинической и клинико-эндоскопической ремиссий. У быстрых ацетиляторов сульфасалазин приводил к клиническому улучшению, но не способствовал развитию клинической и клинико-эндоскопической ремиссий.

К снижению гистологической активности по уровню нейтрофильной инфильтрации, по полнокровию сосудов слизистой оболочки, по количеству и глубине эрозивно-язвенных дефектов лекарственное средство приводило у пациентов с ЯК за счет медленных ацетиляторов с этой патологией. Двухнедельный курс терапии сульфасалазином оказался недостаточным для эффективного снижения гистологической активности воспаления у быстрых ацетиляторов с ЯК [5–8, 14–16].

5. На фоне лечения сульфасалазином в периферической крови у больных ЯК с разным ацетиляторным фенотипом происходило накопление клеток в S-фазе клеточного цикла и уменьшение количества клеток с микроядрами.

В системе периферической крови у больных ЯК с быстрым фенотипом N-ацетилирования стандартные дозы сульфасалазина приводили к повышенной продукции неполноценных гиперсегментированных нейтрофилов и не влияли на развитие патологического апоптоза. Апоптоз сопровождался модуляцией ингибиторного влияния сульфасалазина на клеточную пролиферацию посредством торможения G1-фазы клеточного цикла.

У медленных ацетиляторов стандартные дозы сульфасалазина позволяли уменьшить частоту образования гипосегментированных нейтрофилов и клеток с микроядрами, что создавало предпосылки к прерыванию патологического апоптоза. Снижение выживаемости клеток периферической крови вследствие приема сульфасалазина при низкой активности NAT2 у пациентов с ЯК происходило за счет блокирования S-фазы с ответным уменьшением количества клеток в G<sub>2</sub>-фазе клеточного цикла [10, 11].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. При проведении фармакогенетических исследований генотипирование по полиморфизму NAT2 надлежит использовать для выявления предикторов различных заболеваний, а определение ацетиляторного фенотипа – для уточнения риска токсичности и ожидаемого терапевтического эффекта лекарственных средств, метаболизирующихся с помощью реакций N-ацетилирования [9].

2. Пациентам с ЯК в отсутствие определения ацетиляторного статуса следует избегать назначения высоких доз сульфасалазина, так как большинство из них обладают низкой активностью NAT2 и имеют повышенный риск развития нежелательных явлений [3, 4, 8, 12, 13, 15].

3. Для повышения эффективности и безопасности сульфасалазина целесообразно устанавливать у пациентов с ЯК фенотип N-ацетилирования и для каждого из них рассчитывать суточную дозу на основе индивидуального отношения (r) концентраций AcINH и INH [2, 5, 7, 8, 14–16].

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

### Статьи в научных журналах

1. Сатырова, Т.В. Ацетиляторный статус: современный взгляд на проблему (обзор литературы) / Т.В. Сатырова // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 4 (22). – С. 31-36.
2. Вариабельность фенотипа N-ацетилтрансферазы у жителей г. Гомеля и Гомельской области / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова, А.Н. Осипенко, Н.Б. Осипенко, М.Н. Васенда // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 1 (23). – С. 73-77.
3. Вариабельность фенотипа N-ацетилтрансферазы у пациентов с язвенным колитом / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова, А.Н. Осипенко, Н.Б. Осипенко, М.Н. Васенда // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 42-47.
4. Сатырова, Т.В. Фенотипический полиморфизм фермента N-ацетилтрансферазы 2 у больных язвенным колитом / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Медицинская панорама. – 2010. – № 3 (111). – С. 35-37.
5. Сатырова, Т.В. Оценка эффективности сульфасалазина в лечении рецидивов язвенного колита на основе гистологических критериев у пациентов с быстрым и медленным фенотипом ацетилирования / Т.В. Сатырова, Э.А. Надыров, Е.И. Михайлова // Медицинская панорама. – 2010. – № 7 (115). – С. 33-37.
6. Сатырова, Т.В. Язвенный колит: современный взгляд на этиологию и патогенез (обзор литературы) / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 2 (24). – С. 7-11.
7. Сатырова, Т.В. Клиническая и эндоскопическая оценка эффективности сульфасалазина в лечении рецидива язвенного колита / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Рецепт. – 2010. – № 5 (73). – С. 167-173.
8. Сатырова, Т.В. Влияние ацетиляторного фенотипа на развитие клинических побочных эффектов у пациентов с язвенным колитом на фоне лечения сульфасалазином / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Рецепт. – 2010. – № 6 (74). – С. 135-142.
9. Сатырова, Т.В. Полиморфизм гена NAT2 у пациентов с язвенным колитом и здоровых добровольцев Юго-Восточной популяции европеоидов Республики Беларусь / Т.В. Сатырова // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 4 (26). – С. 48-53.
10. Сатырова, Т.В. Цитогенетические изменения в клетках системы крови у пациентов с язвенным колитом на фоне лечения сульфасалазином / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 4 (26). – С. 43-48.
11. Афонин, В.Ю. Влияние сульфасалазина на гомеостаз системы крови у пациентов с язвенным колитом / В.Ю. Афонин, Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 4 (26). – С. 75-81.

## **Статьи в сборниках научных трудов**

12. Сатырова, Т.В. Фармакогенетические аспекты реакций ацетилирования у пациентов с язвенным колитом / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 18-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета: в 4т. / Гомел. госуд. мед. ун-т; редкол.: А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2009. –Т. 4. – С. 22-23.

13. Сатырова, Т.В. Ацетиляторный фенотип у пациентов с язвенным колитом / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова // Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 19-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета: в 4т. / Гомел. госуд. мед. ун-т; редкол.: А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2010. –Т. 4. – С. 34-36.

14. Гистологическая оценка эффективности лечения сульфасалазином пациентов с рецидивом язвенного колита / Т.В. Сатырова, Э.А. Надыров, Е.И. Михайлова, Е.М. Самбук // Материалы научно-практической конференции с международным участием памяти профессора О.А. Голубева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии» / Гомел. госуд. мед. ун-т; редкол.: А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2010. – С. 103-106.

## **Материалы конференций**

15. Ацетиляторный фенотип и безопасность терапии сульфасалазином пациентов с язвенным колитом / Т.В. Сатырова, Е.И. Михайлова, В.Р. Тимашова, М.Н. Данченко // Актуальные проблемы медицины Гомельской области: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию учреждения «Гомельская областная клиническая больница» / редкол.: А.И. Касим [и др.]. – Гомель, 2009. – С. 129.

16. Клинический и эндоскопический контроль эффективности лечения сульфасалазином рецидивов язвенного колита у пациентов с разным типом ацетилирования / Е.И. Михайлова, Т.В. Сатырова, В.Р. Тимашова, Е.Г. Перлов // Актуальные проблемы медицины Гомельской области: материалы ежегодной науч.-практ. конф./ редкол.: А.И. Касим [и др.]. – Гомель, 2010. – С. 104-106.

## **Инструкции**

17. Инструкция по применению «Метод определения активности N-ацетилтрансферазы 2 в сыворотке крови»: утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 29.12.2010 г., регистрационный № 094-0710 / Т.В. Сатырова, Н.А. Алексеев, Е.И. Михайлова. – Гомель, 2011. – 17 с.

## РЭЗІЮМЭ

Сатырова Таццяна Віктараўна

### Эфектыўнасць і бяспека сульфасалазіна ў пацыентаў з яззавым калітам у залежнасці ад актыўнасці N-ацэцілтрансферазы 2

**Ключавыя словы:** актыўнасць N-ацэцілтрансферазы 2, эфектыўнасць, бяспека, сульфасалазін, яззавы каліт.

**Мэта даследавання:** аптымізаваць з улікам актыўнасці NAT2 эфектыўнасць і бяспеку сульфасалазіна ў лячэнні пацыентаў з ЯК.

**Метады даследавання:** клінічныя, лабараторныя, інструментальныя, марфалагічныя, статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** фенатып N-ацэціліравання не з'яўляецца прэдыктарам развіцця ЯК. У валанцёраў Паўднёва-Ўсходняга рэгіёна Рэспублікі Беларусь і пацыентаў з ЯК марудны фенатып ацэціліравання пераважае і складае 66 і 80% адпаведна. Тым не менш, у хворых ЯК у параўнанні са здаровымі дабраахвотнікамі мае месца больш нізкая актыўнасць фермента NAT2. Індывідуальныя суадносіны (г) канцэтрацый AcINH і INH адлюстроўваюць актыўнасць NAT2 і могуць быць выкарыстаны для падліку эфектыўнай і небяспечнай дозы лякарства для пацыентаў з хуткім і марудным фенатыпам N-ацэціліравання. Паліморфныя варыянты T341C, G590A, G857A, C282T, C481T гена NAT2 не ўплываюць на генетычную схільнасць да развіцця ЯК. Адначасовая ацэнка 5 аднануклеатыдных замен у гене NAT2 павышае дакладнасць прагноза ацэціляторнага статуса, але не дазваляе адназначна прадказаць фенатып N-ацэціліравання і можа быць выкарыстана ў адрозненне ад яго толькі для выяўлення прэдыктараў захворвання. Сульфасалазін валодае высокай эфектыўнасцю ў лячэнні ЯК і дазваляе на працягу двух тыдняў дасягнуць гісталагічнай рэмісіі ЯК у 32% выпадках, клініка-эндаскапічнай рэмісіі – 57% выпадках, клінічнай рэмісіі – у 64% выпадках, клінічнага паляпшэння – у 93% выпадках. Высокая актыўнасць NAT2 зніжае клінічную эфектыўнасць лякарства. Сульфасалазін у пацыентаў з ЯК прыводзіць да з'яўлення клінічных пабочных эфектаў ў 53% выпадках. Дефіцыт NAT2 павялічвае рызыку развіцця непажаданых з'яў. Малекулярна-біялагічныя і цытагенетычныя змяненні ў гамеастазе крыві сведчаць пра няздольнасць стандартных доз сульфасалазіна эфектыўна ўплываць на патагенез захворвання ў хворых ЯК з хуткім фенатыпам N-ацэціліравання і прыводзіць да развіцця цыта- і генатаксічных непажаданых з'яў у хворых ЯК з марудным фенатыпам N-ацэціліравання.

**Галіна прымянення:** клінічная фармакалогія, гастрэнтэралогія, практалогія.

## РЕЗЮМЕ

Сатырова Татьяна Викторовна

### **Эффективность и безопасность сульфасалазина у пациентов с язвенным колитом в зависимости от активности N-ацетилтрансферазы 2**

**Ключевые слова:** активность N-ацетилтрансферазы 2, эффективность, безопасность, сульфасалазин, язвенный колит.

**Цель работы:** оптимизировать с учетом активности NAT2 эффективность и безопасность сульфасалазина в лечении пациентов с язвенным колитом.

**Методы исследования:** клинические, лабораторные, инструментальные, морфологические, статистические.

**Полученные результаты и их новизна:** фенотип N-ацетилирования не является предиктором развития ЯК. У волонтеров Юго-Восточного региона Республики Беларусь и пациентов с ЯК медленный фенотип N-ацетилирования преобладает и составляет 66 и 80% соответственно. Тем не менее, у больных ЯК по сравнению со здоровыми добровольцами имеет место более низкая активность фермента NAT2. Индивидуальное отношение ( $r$ ) концентраций AcINH и INH отражает активность NAT2 и может быть использовано для расчета эффективной и безопасной дозы лекарственного средства для пациентов с быстрым и медленным фенотипом N-ацетилирования. Полиморфные варианты T341C, G590A, G857A, C282T, C481T гена NAT2 не влияют на генетическую предрасположенность к развитию ЯК. Одновременная оценка 5 однонуклеотидных замен в гене NAT2 повышает точность прогноза ацетилиаторного статуса, но не позволяет однозначно предсказать фенотип N-ацетилирования и может быть использована в отличие от него только для выявления предикторов заболевания. Сульфасалазин обладает высокой эффективностью в лечении язвенного колита и позволяет в течение 2 недель достичь гистологической ремиссии ЯК в 32% случаев, клинико-эндоскопической ремиссии – 57 % случаев, клинической ремиссии – в 63% случаев, клинического улучшения – в 93% случаев. Высокая активность NAT2 снижает клиническую эффективность лекарственного средства. Сульфасалазин у пациентов с ЯК приводит к появлению клинических побочных эффектов в 53% случаев. Дефицит NAT2 увеличивает риск развития нежелательных явлений. Молекулярно-биологические и цитогенетические изменения в гомеостазе системы крови свидетельствуют о неспособности стандартных доз сульфасалазина эффективно воздействовать на патогенез заболевания у больных ЯК с быстрым фенотипом N-ацетилирования и приводит к развитию цито- и генотоксичных нежелательных явлений у больных ЯК с медленным фенотипом N-ацетилирования.

**Область применения:** клиническая фармакология, гастроэнтерология, проктология.

## SUMMARY

**Satyrova Tatsiana Viktorovna**

### **The efficiency and safety of sulfasalazine in patients with ulcerative colitis depending on the N-acetyltransferase 2 activity**

**Key words:** N-acetyltransferase 2 activity, efficiency, safety, sulfasalazine, ulcerative colitis.

**The purpose of the study:** to optimise the efficiency and safety of sulfasalazine in the treatment of patients with ulcerative colitis taking into account NAT2 activity.

**Research methods:** clinical, laboratory, instrumental, morphological, statistical.

**Obtained results and their newness:** phenotype of N-acetylation is not a prediction of UC developments. Slow phenotype N-acetylation prevails in the volunteers of Southeast region of Belarus and the patients with the UK and makes 66% and 80% accordingly. Nevertheless, in comparison with healthy volunteers lower activity of NAT2 enzyme takes place in the patients with the UC. The individual relation ( $r$ ) of concentration of AcINH and INH reflects NAT2 activity and can be used for calculation of an effective and safe dose of a medical product for patients with fast and slow phenotype N-acetylation. Polymorphic variants T341C, G590A, G857A, C282T, C481T of NAT2 gene do not influence on genetic predisposition to the UC development. The simultaneous estimation of 5 single nucleotide polymorphism replacements in gene NAT2 raises the accuracy of the forecast of the acetylator status, but does not allow to predict phenotype N-acetylation unequivocally and can be used not only for revealing of diseases prediction. Sulfasalazine possesses high efficiency in the treatment of ulcerative colitis and within 2 weeks allows to reach histologic remissions in 32 % of cases, clinico-endoscopic remissions – in 57 % of cases, clinical remission – in 64 % of cases, clinical improvement – in 93 % of cases. High activity of NAT2 reduces clinical efficiency of the medical product. In patients with the UC sulfasalazine leads to the occurrence of clinical side effects in 53 % of cases. NAT2 deficiency increases risk of development of undesirable phenomena. Molecular biological and cytogenetic changes in the homeostasis of system of blood testify to inability of standard doses of sulfasalazine to influence effectively on the pathogenesis of the disease in patients with the UC with fast phenotype N-acetylation and leads to the development of cyto- and genotoxic undesirable phenomena in patients with the UC with slow phenotype N-acetylation.

**Field of application:** clinical pharmacology, gastroenterology, proctology.

Научное издание

**САТЫРОВА**  
ТАТЬЯНА ВИКТОРОВНА

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ  
СУЛЬФАСАЛАЗИНА У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АКТИВНОСТИ N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ 2**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Подписано в печать 27.05.2011.  
Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная 80 г/м<sup>2</sup>. Гарнитура «Таймс»  
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 70 экз. Заказ № 241

Издатель и полиграфическое исполнение  
Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
246000, г. Гомель, ул. Ланге, 5.  
ЛИ № 02330/0549419 от 08.04.2009.