

## РОЛЬ ФЕНОТИПА N-АЦЕТИЛИРОВАНИЯ В РАЗВИТИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

<sup>1</sup> Е.И.Михайлова, <sup>2</sup> Ф.В.Багинский, <sup>1</sup> О.Л.Палковский

<sup>1</sup> Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Гомельская областная клиническая больница г. Гомель, Республика Беларусь

*Целью исследования явилось изучение наличия взаимосвязи фенотипа N-ацетилирования с предрасположенностью к развитию рассеянного склероза. Группу исследования сформировали 27 пациентов с рассеянным склерозом, диагноз которых был основан на пересмотренных критериях Макдональда (2011). С помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым обнаружением на аппарате «Agilent 1100» с помощью тестового препарата «изониазид» установлено, что у пациентов с рассеянным склерозом преобладает медленный фенотип N-ацетилирования (88,90%). Медленный фенотип N-ацетилирования у пациентов с рассеянным склерозом встречается чаще по сравнению со здоровыми добровольцами, проживающими с ними в одной географической зоне ( $p=0,012$ ). Следовательно, медленный фенотип N-ацетилирования является предиктором развития рассеянного склероза.*

### Введение

Одной из наиболее актуальных проблем современной медицины не только в медицинском, но и в социально-экономическом плане, по мнению многих специалистов, является рассеянный склероз (РС). Заболевание характеризуется значительной распространенностью среди болезней центральной нервной системы. В настоящее время уже примерно каждый десятый пациент в неврологическом стационаре – пациент с РС. Тем не менее, заболеваемость РС продолжает неуклонно расти и в последнее десятилетие как в мире в целом, так и на всем постсоветском пространстве [1]. Кроме того, заболевание поражает преимущественно людей в самом цветущем возрасте (20–40 лет) и быстро приводит их к тяжелой инвалидности. Среди всех причин инвалидизации лиц молодого возраста РС занимает первое место по частоте среди неврологических заболеваний. Более того, даже в странах с развитой страховой медициной РС тяжелым бременем ложится на экономику и занимает первое место по затратам на одного пациента в расчете на все годы его лечения среди всех неврологических заболеваний [2].

РС признан самым «загадочным» заболеванием в неврологии ввиду своей изменчивости, нестабильности и непредсказуемости. До настоящего времени этиология заболевания точно не установлена. Несмотря на применение самых технически совершенных методов диагностики, таких как магнитно-резонансная томография и спектроскопия, вызванные потенциалы головного мозга, позитронно-эмиссионная томография, генетические и иммунологические исследования, до сих пор еще не выявлены патогномичные признаки за-

болевания, которые позволят со стопроцентной уверенностью распознать РС. В результате большинство неврологов стали оперировать при проведении клинических исследований такими категориями, как «сомнительный», «вероятный» и «определенный» РС. Несмотря на появление в последние годы новых данных о патогенезе РС, в этом вопросе также отсутствует полная ясность. По этой причине в лечении РС, хотя за последние 10 лет и наблюдаются существенные позитивные сдвиги, так и не произошло настоящего качественного скачка, который бы позволил считать проблеме этого заболевания решенной [3].

**Цель исследования:** изучить наличие взаимосвязи фенотипа N-ацетилирования с предрасположенностью к развитию рассеянного склероза.

### Материал и методы исследования

Группу исследования сформировали 27 пациентов с РС, которые были направлены на консультацию к неврологу или поступили на стационарное лечение в неврологическое отделение Учреждения «Гомельская областная клиническая больница». Для установления диагноза РС использовались клинические и инструментальные методы обследования. Диагноз рассеянного склероза основывался на пересмотренных критериях Макдональда (2011) [4].

Определение фенотипа N-ацетилирования проводили с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым обнаружением на аппарате «Agilent 1100» с помощью тестового препарата «изониазид». Фенотип N-ацетилирования определяли как скорость ацетилирования изониазида (IZO) и рассчитывали как отношение ацет-

изониазида (AcIZO) к IZO – отношение R. Пациентов с отношением AcIZO к IZO меньше, чем 0,28, относили к медленным ацетиляторам. При увеличении значения отношения R выше, чем 0,28, пациенты считались быстрыми ацетиляторами [5].

Статистическую обработку результатов исследования проводили в операционной среде Windows XP с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 7.0», США и «MedCalc», Бельгия. Соответствие распределения количественных признаков закону нормального распределения оценивали с помощью теста Колмогорова-Смирнова. С учетом наличия распределения, отличного от нормального, показатели представлялись в виде медианы (Me) и 95%-ного доверительного интервала (95%ДИ). При анализе первичных данных производилось парное сравнение запланированных независимых выборок по количественному или порядковому признаку с помощью теста Манна-Уитни, зависимых – критерия Вилкоксона. Для анализа различия частот значения качественного (бинарного) признака в двух независимых выборках использовался двусторонний тест точного критерия Фишера, в зависимых – критерий МакНемара. Оценка взаимосвязи количественных и/или качественных признаков производилась с помощью ранговой корреляции по Кендаллу с определением коэффициента ранговой корреляции ( $\tau$ ). Статистически значимыми считали различия при уровне  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что в исследуемой группе пациентов статус быстрого фенотипа ацетилятора имели 11,10% больных с РС (3 чел.), статус медленного ацетилятора – 88,90% пациентов (24 чел.). Среди медленных ацетиляторов было 16,6% мужчин (4 чел.) и 83,3% женщин (20 чел.), а среди быстрых – 33,3% мужчин (1 чел.) и 66,6% женщин (2 чел.). Бимодальное фенотипическое распределение пациентов с РС (в процентах), полученное по результатам проведенного исследования, представлено на рис. 1.

Отношения концентрации AcIZO к IZO (отношение R) у больных РС через 3 часа после нагрузки IZO находились в пределах от 0,0040 (минимальное значение) до 0,5600 (максимальное значение) (Me=0,0890, 95%ДИ: 0,0957–0,2738). Концентрация AcIZO у больных РС через 3 часа после нагрузки IZO находилась в пределах от 0,0040 мкг/мл (минимальное значение) до 0,5600 мкг/мл (максимальное значение) (Me=0,0890 мкг/мл, 95%ДИ: 0,0957–0,2738 мкг/мл). Концентрация IZO у больных РС через 3 часа после нагрузки изониазидом колебалась в пределах от 0,0040 мкг/мл (минимальное значение) до 0,5600 мкг/мл

(максимальное значение) (Me=0,0890 мкг/мл, 95%ДИ: 0,0957–0,2738 мкг/мл). Различия между группами статистически достоверны ( $p=0,00046$ ). На рис. 2 представлено сравнение полученных значений концентраций IZO и AcIZO (мкг/мл) в группе исследуемых пациентов через 3 часа после нагрузки изониазидом.

Концентрация AcIZO у медленных метаболизаторов варьировала от 0,0040 до 0,1600 мкг/мл (Me=0,0770 мкг/мл, 95%ДИ: 0,08016–0,1538 мкг/мл) и была статистически достоверно ниже, чем у быстрых ацетиляторов, у которых она колебалась от 0,2600 до 0,3100 мкг/мл (Me=0,3000 мкг/мл, 95%ДИ: 0,2700–0,3075 мкг/мл;  $p=0,0003$ ). На рис. 3 представлены значения концентрации AcIZO (мкг/мл) у медленных и быстрых метаболизаторов через 3 часа после нагрузки IZO.

Концентрация IZO у медленных ацетиляторов менялась в диапазоне от 0,3853 до 1,2234 мкг/мл (Me=0,8571 мкг/мл, 95%ДИ: 0,8621–1,1385 мкг/мл) и была достоверно выше, чем у пациентов с быстрым ацелированием, где она колебалась от 0,5632 до 1,1126 мкг/мл (Me=0,8391 мкг/мл, 95%ДИ: 0,6322–1,0442 мкг/мл;  $p=0,00007$ ). На рис. 4 представлена концентрация IZO (мкг/мл) у медленных и быстрых метаболизаторов через 3 часа после нагрузки IZO.



Рис. 1. Бимодальное фенотипическое распределение пациентов с РС (в процентах)

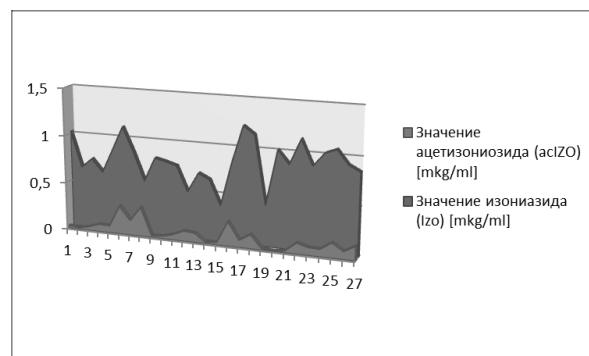
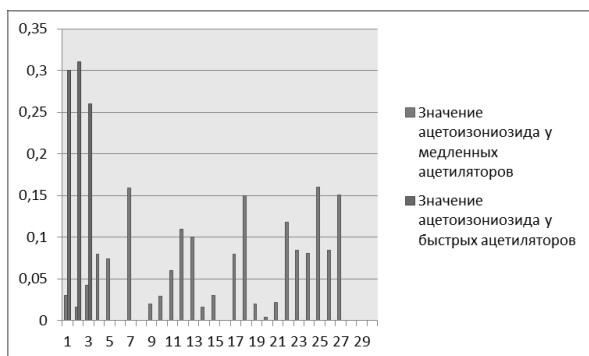
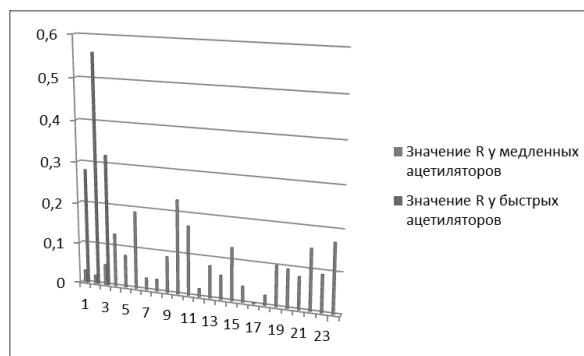


Рис. 2. Концентрация IZO и AcIZO (мкг/мл) в группе пациентов РС через 3 часа после нагрузки IZO



**Рис. 3. Концентрация AcIZO (мкг/мл) у медленных и быстрых метаболизаторов через 3 часа после нагрузки IZO**



**Рис. 5. Отношение концентрации AcIZO к IZO (отношение R) у медленных и быстрых метаболизаторов через 3 часа после нагрузки IZO**

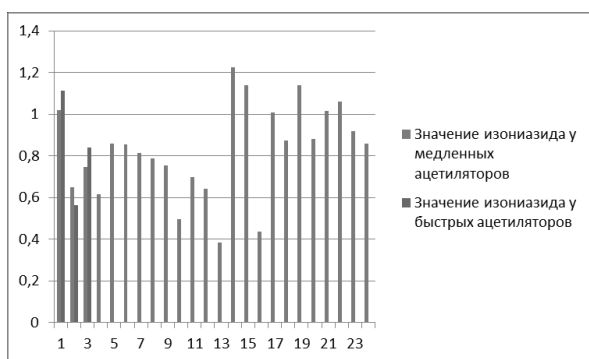
Отношение концентрации AcIZO к IZO (отношение R) у медленных метаболизаторов варьировало от 0,0040 до 0,2300 ( $Me=0,08000$ , 95%ДИ: 0,03747–0,1076) и было статистически достоверно ниже, чем у быстрых ацетиляторов, у которых оно колебалось от 0,2810 до 0,5600мкг/мл ( $Me=0,3200$ , 95%ДИ: 0,01168–0,7623,  $p=0,00014$ ). На рис. 5 представлено отношение концентрации AcIZO к IZO (отношение R) у медленных и быстрых метаболизаторов через 3 часа после нагрузки IZO.

При изучении статистической взаимосвязи фенотипа N-ацетилирования с характеристиками исследуемых пациентов не установлено ассоциации активности NAT2 с полом ( $\tau=0,19$ ,  $p=0,3393$ ) пациентов, их возрастом ( $\tau=0,13$ ,  $p=0,5011$ ), массой тела ( $\tau=0,16$ ,  $p=0,2357$ ), возрастом дебюта заболевания ( $\tau=0,55$ ,  $p=0,29$ ), EDSS ( $\tau=0,49$ ,  $p=0,2850$ ) и пристрастием к курению ( $\tau=0,075$ ,  $p=0,7020$ ). Полученные результаты сопоставимы с данными других исследователей, которые изучали взаимосвязь фенотипа ацетилирования с пристрастием к курению и антропометрическими характеристиками здоровых добровольцев. Например, P.A.Philip с соавт. доказали отсутствие корреляции фенотипа N-ацетилирования с полом (мужчины – 63:37, женщины – 59:41;

$p>0,05$ ), возрастом ( $t=0,21$ ,  $p>0,05$ ;  $\chi^2=0,74$ ,  $p>0,10$ ) и массой тела ( $t=1,25$ ,  $p>0,05$ ;  $r_s=-0,053$ ,  $p>0,50$ ) обследованных добровольцев [6]. С.В.Ambrosone с соавт. не выявили ассоциации активности NAT2 и курения (отношение быстрый/медленный ацетилятор составило 37:63 и 41:59 среди курящих и некурящих соответственно,  $p>0,05$  [7].

Распределение быстрых и медленных ацетиляторов в группе пациентов с РС, полученное в результате проведенного исследования, сравнили с результатами исследования Т.В.Сатыровой с соавт., которые в 2011 г. изучили вариабельность фенотипа N-ацетилтрансферазы у 129 здоровых добровольцев, проживающих в г.Гомеле и Гомельской области [8]. По данным этого исследования, медленный ацетиляторный фенотип встречался в 71,00% случаев, быстрый – в 29,00% случаев. Различия между группой пациентов с РС и здоровыми добровольцами в распределении быстрых и медленных ацетиляторов оказались статистически значимыми ( $p=0,012$ ).

Таким образом, впервые в Республике Беларусь проведено исследование вариабельности фенотипа N-ацетилтрансферазы с помощью современного и результативного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии у пациентов с РС, а также изучена возможность наличия статистической взаимосвязи ацетиляторного фенотипа с имеющимся заболеванием. Установлено, что соотношение быстрых и медленных ацетиляторов у пациентов с РС соответствовало 88,90% и 11,10%. При сравнении распределения фенотипов N-ацетилирования у пациентов с РС со здоровыми добровольцами, проживающими в одной географической зоне с ними, т.е. в юго-восточном регионе Республики Беларусь, показано наличие статистической взаимосвязи медленного фенотипа N-ацетилирования с развитием РС. Следовательно, доказано, что фенотип N-ацетилирования является предиктором развития РС.



**Рис. 4. Концентрация IZO (мкг/мл) у медленных и быстрых метаболизаторов через 3 часа после нагрузки IZO**

## Выводы

1. У пациентов с рассеянным склерозом преобладает медленный фенотип N-ацетилирования, который имеет место в 89% случаев.

2. Медленный фенотип N-ацетилирования является предиктором развития рассеянного склероза ( $p=0,012$ ).

## Литература

1. Попова, Н. Особенности терапии рассеянного склероза / Н.Попова // Consilium Medicum. – 2004. – Т.3, №8. – С.645.
2. Демина, Л. Симптоматическая терапия рассеянного склероза / Л.Демина // Consilium Medicum. – 2002. – Т.4, №2. – С.324.
3. Шмидт, Т.Е. Рассеянный склероз: руководство для врачей / Т.Е.Шмидт [и др.]; под общ. ред. Т.Е.Шмидта. – 2-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2010. – 272 с.
4. Soppak, F. McDonald criteria in clinic of multiple sclerosis: 5-year active treatment extension of the phase 3 BENEFIT trial / F.Soppak // Lancet Neurol. – 2012. – V.8, No.12. – P.97–99.
5. Инструкция по применению «Метод определения активности N-ацетилтрансферазы 2 в сыворотке крови»: утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 29.12.2010г., регистрационный №094-0710 / Т.В.Сатырова, Н.А.Алексеев, Е.И.Михайлова. – Гомель, 2011. – 17 с.
6. Comparison between serum and urinary sulphadimidine acetylators as predictors of isoniazid acetylator status in patients with pulmonary tuberculosis / S.P.N.Singh [et al.] // Indian. J. Chest. Dis. Allied. Sci. – 1996. – Vol.38. – P.5-11.
7. Cigarette smoking, N-acetyltrasferase 2 genetic polymorphisms and breast cancer risk / C.V.Ambrosone [et al.] // JAMA. – 1996. – Vol.276, No.18. – P.1494–1501.

8. Сатырова Т.В. Эффективность и безопасность сульфасалазина у пациентов с язвенным колитом в зависимости от активности N-ацетилтрансферазы 2: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.06 / Т.В.Сатырова; ГГМУ. – Гомель, 2011. – 29 с.

## ROLE OF PHENOTYPE N-ACETYLATION IN THE DEVELOPMENT OF MULTIPLE SCLEROSIS

<sup>1</sup>E.I.Mikhailova, <sup>2</sup>F.V.Baginski,  
<sup>1</sup>O.L.Palkovsky

<sup>1</sup>Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Gomel Regional Clinical Hospital, Gomel, Republic of Belarus

The aim of this study was to investigate the relationships of N-acetylation phenotype with a predisposition to the development of multiple sclerosis. The study group involved 27 patients with multiple sclerosis, the diagnosis of whom was based on the revised McDonald criteria (2011). Using the HPLC method with UV detection by means of apparatus «Agilent 1100» and the test drug “isoniazid” it was established that the slow phenotype N-acetylation prevailed in patients with multiple sclerosis (88.90%). The slow phenotype of N-acetylation was revealed more often in patients with multiple sclerosis as compared with healthy volunteers residing with them in the same geographical area ( $p=0.012$ ). Therefore, the slow phenotype of N-acetylation is a predictor of the multiple sclerosis development.

## КЛИРЕНС МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ КАК ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР В ОПРЕДЕЛЕНИИ ФЕНОТИПА N-АЦЕТИЛИРОВАНИЯ

<sup>1</sup>О.Л.Палковский, <sup>1</sup>Е.И.Михайлова, <sup>2</sup>А.А.Кудря, <sup>1</sup>М.Ю.Шестопапов

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Гомельская областная клиническая больница, г. Гомель, Республика Беларусь

Целью исследования явилось изучение эффективности метода определения фенотипа N-ацетилирования на основе определения клиренса мочевой кислоты после и до приема кофеина в качестве тестового препарата. Среди 28 здоровых добровольцев, проживающих в юго-восточном регионе Республики Беларусь, выявлено 18 (64,29%) медленных и 10 (35,71%) быстрых ацетиляторов. Распределение фенотипов N-ацетилирования, полученное с помощью апробируемого метода соответствовало таковому, установленному на той же популяции Т.В.Сатыровой с соавт. (2011 г.) путем выявления скорости метаболизма изониазида в качестве тестового препарата с использованием ВЭЖХ (66% медленных ацетиляторов,  $p=0,69$ ). Апробированный метод, позволяющий эффективно определять фенотип ацетилирования без вложения значительных материальных и людских затрат, может быть рекомендован для использования учреждениям практического здравоохранения.