

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УРАТНЫЕ ТРАНСПОРТЕРЫ КАК МИШЕНИ ДЛЯ НОВЫХ УРИКОЗУРИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Я. Ф. Зверев, В. М. Брюханов¹

Исследования последних 15 лет позволили выявить около 10 генов, кодирующих соответствующие уратные транспортеры, ассоциированные с сывороточным уровнем мочевой кислоты. Выяснено, что их мутации способны привести к развитию почечной гиперурикемии. Идентификация уратных транспортеров открывает перспективы создания новых урикозурических препаратов, которые являются потенциальными альтернативными средствами для лечения пациентов с рефрактерной подагрой, не чувствительных к ингибиторам ксантиноксидазы, таким как аллопуринол и фебуксостат.

Ключевые слова: почечный транспорт мочевой кислоты; урикозурические лекарственные средства.

Приобретенные в последние 15 лет знания, касающиеся механизмов почечного транспорта мочевой кислоты (МК), позволили усовершенствовать наши представления о лекарственных средствах, воздействующих на плазменное содержание МК, в первую очередь, при подагре и гиперурикемии, а также наметить новые стратегические подходы к лечению этих состояний.

В настоящее время признано существование 3 принципиальных подходов, направленных на достижение этой цели. Первый – уменьшить образование МК в организме человека. Второй – активизировать деградацию МК. Третий – усилить выделение МК из организма.

Не останавливаясь подробно на описании первых 2 подходов, отметим, что к классическим средствам аллопуринолу и фебуксостату, ингибирующим активность ксантиноксидазы и за счет этого уменьшающим образование МК, следует добавить новый путь, разрабатываемый в последние годы и направленный на воздействие на более ранние стадии известного биохимического каскада. Среди них — ингибирование фосфорилазы пуриновых нуклеозидов (PNP), энзима, превращающего пуриновые нуклеотиды в гипоксантин. Действующий в этом направлении препарат, проходящий в данный момент вторую фазу клинических испытаний у пациентов с подагрой, BCX-4208, зарекомендовал себя как перспективное антиподагрическое лекарственное средство. Недавнее пилотное клиническое испытание BCX-4208, малой молекулы, блокирующей активный центр PNP, показало дозозависимое снижение сывороточного уровня ксантина и гипоксантина у пациентов с подагрой на фоне базисного применения аллопуринола [6].

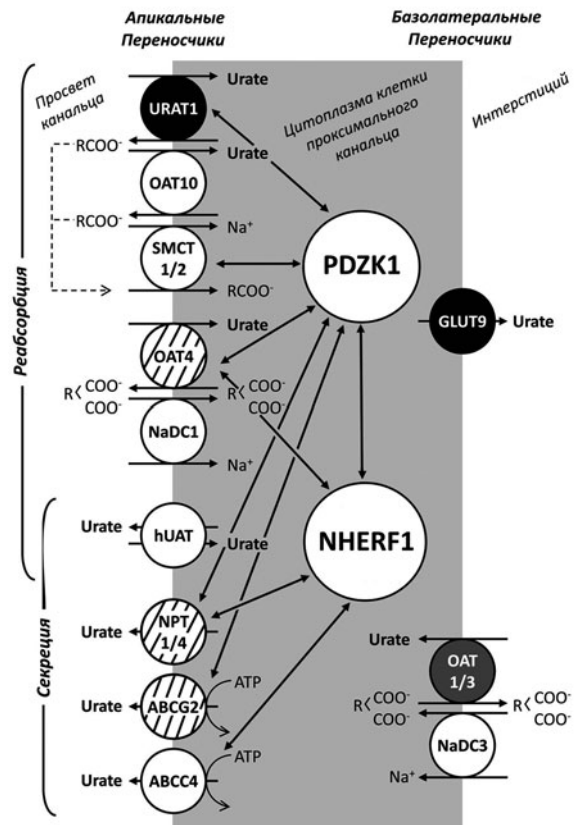
В рамках второго подхода упомянем создание рекомбинантной формы фермента уриказы для быстрого превращения плохо растворимого урата плазмы крови в высоко растворимый аллантаин, легко экскретируемый почками. Такой препарат под названием расбуриказа (rasburicase) создан в начале 2000-х гг. для лечения детей с синдромом лизиса опухоли, но проявил потенциал снижения плазменного уровня мочевой кислоты у пациентов с подагрой [21, 33]. К сожалению, данный препарат обладает рядом серьезных побочных эффектов, в том числе высокой токсичностью, антигенностью и иммуногенностью. Для преодоления побочных эффектов расбуриказы был создан препарат пеглотиказа (pegloticase), принципиальное отличие которого состоит в ковалентном связывании рекомбинантного протеина с полиэтиленгликолем. Препарат показал неплохую эффективность в ходе третьей фазы клинических исследований у пациентов с рефрактерной подагрой и рекомендован к применению в США [17, 38].

Третий подход (создание и применение новых урикозурических препаратов) является предметом более детального обсуждения, поскольку напрямую связан с воздействием на почечный транспорт МК. Роль таких препаратов достаточно велика. Несмотря на то, что основными препаратами, используемыми для снижения содержания МК в плазме крови, являются ингибиторы ксантиноксидазы аллопуринол и относительно недавно появившийся фебуксостат, зафиксированный в последние годы значительный рост случаев заболевания подагрой, как оказалось, сочетается с увеличением числа пациентов, не чувствительных к действию этих лекарственных средств. Такие рефрактерные к действию ингибиторов ксантиноксидазы пациенты составляют сегодня в Европе и США 3 – 5 %. По другим данным у 60 % больных, страдающих подагрой и ожирением, не удается достигнуть плазменного уровня МК

¹ ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, Барнаул, ул. Ленина, 40.

ниже 6 мг/дл при приеме обычной дозы одного аллопуринола. Для фебуксостата аналогичные показатели колеблются от 21 до 53 % [7, 8, 29]. Все это обуславливает необходимость появления дополнительных средств, эффективно снижающих уровень МК иным путем [17, 33, 34]. Кроме того, применение таких препаратов позволяет уменьшить дозу ингибиторов ксантиноксидазы, снизив за счет этого вероятность возникновения побочных реакций. Как бы то ни было, урикозурические средства сегодня прочно заняли нишу препаратов второй линии для лечения подагры и гиперурикемии.

Первым препаратом, у которого выявлены урикозурические свойства, оказалась ацетилсалициловая кислота при ее назначении в больших дозах. К сожалению, такие серьезные побочные эффекты как салицилизм и ulcerогенное действие, характерные для длительного применения в больших дозах этого препарата, сделали его использование при подагре неприемлемым [5]. Затем появились сульфинпирозон, бензбромарон и пробенецид. Первый из них, хотя существенно усиливал экскрецию МК с мочой, проявил неблагоприятное воздействие на слизистую оболочку желудка и костный мозг. Бензбромарон широко применялся во всем мире, но в последние годы его использование несколько ограничено в связи с обнаруженной гепатотоксичностью и подавлением функции костного мозга [25]. Что касается пробенецида, в настоящее время этот препарат сохранил свою актуальность и активно применяется в комплексном лечении подагры. Хотя следует отметить, что по невыясненной пока причине эффективность пробенецида существенно уменьшается, если скорость клубочковой фильтрации у пациента падает ниже 50 мл/мин [5]. Наиболее привлекательным считается комбинированное применение пробенецида с аллопуринолом, особенно когда у больного определена сниженная чувствительность к ингибиторам ксантиноксидазы. Так, когда при длительном назначении аллопуринола не удавалось достигнуть желаемой сывороточной концентрации МК 5 мг/дл, добавление пробенецида или бензбромарона в течение 2 недель обеспечивало достижение указанной точки у большинства пациентов [31, 32]. По-видимому, именно совместное применение аллопуринола (фебуксостата) с пробенецидом (бензбромароном) наиболее действенно снижает уровень МК в сыворотке крови, превышая эффект каждого из названных препаратов по отдельности [5]. Кроме того, это позволяет уменьшить дозировку каждого из используемых препаратов. Особенно это важно для назначения пробенецида, доза которого может достигать 2 г в сутки, что вызывает настороженность относительно возможного образования уратных камней. Это всегда следует иметь в виду при назначении урикозурических средств. Отметим, что кроме пробенецида и бензбромарона, урикозурические свойства выявлены у ряда нестероидных противовоспалительных средств (фенилбутазон, индо-



Предполагаемая схема функционирования уратной транспортомы в клетке проксимального канальца почки человека.

Черные кружки — установленные у человека уратные транспортеры. Заштрихованные кружки — высокая степень доказанности уратных транспортеров у человека (исследования GWAS, данные, полученные в экспрессионных системах, *in vitro* и на нокаутных животных). Светлые кружки — предполагаемые у человека уратные транспортеры (теоретическое обоснование, эксперименты *in vitro*). PDZK1 и NHERF1 — скаффолд-протеины.

метацин), тиазидовых и петлевых диуретиков (гидрохлортиазид, фуросемид), ингибитора ангиотензиновых рецепторов лозартана [9, 10, 14, 16, 21, 26]. Большой материал относительно урикозурического действия лекарственных растений недавно систематизирован в монографии украинских исследователей [1].

Сведения, полученные в последние годы, позволяют понять механизмы действия урикозурических препаратов на клеточно-молекулярном уровне. В настоящее время, когда в проксимальных канальцах почек удалось идентифицировать более 10 переносчиков, обеспечивающих двунаправленный транспорт уратов, наряду с обоснованными сомнениями в адекватности доминировавшей в последние десятилетия четырехкомпонентной модели (фильтрация в клубочке, проксимальная реабсорбция, проксимальная секреция и постсекреторная реабсорбция) возникает серьезная проблема, касающаяся скоординированного функционирования этого ансамбля.

Не вызывает сомнений, что для синхронизации функционирования такого количества разнонаправ-

ленных транспортеров, локализованных в основном в области апикальной мембраны проксимального канальца почки, необходимо наличие интегральной структуры, координирующей транспортные процессы. Такая структура, пока предложенная гипотетически, получила название мультимолекулярного комплекса, транспортирующего ураты, или “уратной транспортосомы” (см. рисунок). Полагают, что ключевую роль в сборке этой транспортосомы играют так называемые скаффолд-протеины, обеспечивающие регулирование многих внутриклеточных сигнальных путей посредством связывания участников этих событий в единые комплексы. К таким скаффолд-протеинам, функционирующим вблизи апикальных мембран поляризованного эпителия проксимальных почечных канальцев относятся протеины, содержащие PDZ-домены, PDZK1 и NHERF1 [22, 23]. Очевидно, скаффолд-протеины обеспечивают белок-белковые взаимодействия, а также модулируют функцию рецепторов и ионных каналов, с которыми они связаны [23]. Таким образом, на апикальной мембране проксимальных канальцев формируется мультимолекулярный комплекс. По современным представлениям, этот комплекс включает скаффолд-протеины PDZK1 и NHERF1, а также уратные транспортеры URAT1, OAT4, SMCT1, SMCT2, NPT1, NPT4, ABCG2, ABCG4, обеспечивающие как реабсорбцию, так и секрецию МК [4, 20, 36, 37]. Образование такого функционального комплекса, включающего транспортные протеины, гормональные рецепторы и внутриклеточные сигнальные элементы, по-видимому, обеспечивает действенную и специфическую сигнальную трансдукцию и прямое модулирование транспортных процессов.

Установлено, что все перечисленные выше урикозурические препараты обладают различной степенью аффинитета к апикальному уратному транспортеру URAT1. Попав в просвет проксимального канальца путем фильтрации и/или секреции, препараты ингибируют на апикальной мембране урат/монокарбоксилатный обмен. Учитывая ведущую роль транспортера URAT1 в осуществлении апикального обмена урата, очевидно, что урикозурическая активность зависит от степени ингибирования этого обменника. В экспериментах *in vitro* наибольшую активность проявил бензбромарон, практически полностью блокирующий эффективность транспортера. Близкую степень ингибирующей активности (на 80 – 95 %) продемонстрировали пробенецид и лозартан. Фуросемид угнетал активность URAT1 на 40 % [9, 14]. Имеются также сведения о способности пробенецида ингибировать активность другого апикального уратного транспортера OAT4 [2]. Кроме того, у пробенецида, бензбромарона и лозартана обнаружена способность на 55 – 70 % ингибировать активность базолатерального транспортера GLUT9, обеспечивающего выход попавшей в клетку МК в интерстиций [2, 3]. Таким образом, в настоящее время ясно, что в основе действия наиболее мощных

урикозурических препаратов, лежит подавление 2 основных транспортеров, переносящих МК как через апикальную (URAT1, OAT4), так и через базолатеральную (GLUT9) мембраны проксимальных почечных канальцев.

Удалось также выяснить механизм антиурикозурического эффекта пиразинамида, действие которого ранее приписывалось подавлению почечной секреции урата. Сегодня, когда раскрыт механизм функционирования уратного транспортера URAT1, стало понятно, что перенос МК из просвета проксимального канальца через апикальную мембрану осуществляется в обмен на монокарбоксилатные анионы, имеющие аффинитет к этому транспортному протеину. К ним относятся лактат, никотинат, ацетоацетат, бета-гидроксипутират, а также пиразинокарбоксилатная кислота, являющаяся активным метаболитом противотуберкулезного препарата пиразинамида. Последний, накапливаясь в клетках проксимального канальца и обладая аффинитетом к протеину URAT1, по-видимому, является субстратом для апикального обмена с МК. Поэтому введение пиразинамида, очевидно, не ингибирует секрецию МК, а стимулирует ее реабсорбцию, активируя урат-анионный обменник URAT1 [16]. Исходя из этой модели, открываются возможности объяснения давно известного парадоксального факта, согласно которому ряд лекарственных препаратов, таких как диуретики и производные салициловой кислоты, оказывающие в больших дозах урикозурическое действие, в условиях длительного применения в малых дозах, напротив, вызывают гиперурикемию. Ранее считалось, что в больших дозах эти препараты подавляют реабсорбцию МК, а в малых дозах — ингибируют его секрецию. Сегодня объяснение этого феномена выглядит иначе. Благодаря аффинитету данных лекарственных соединений к протеину URAT1, попав в просвет проксимального канальца, они подавляют апикальную реабсорбцию МК. Применение этих препаратов в малых дозах обуславливает их накопление в цитоплазме клеток проксимальных канальцев и, действуя из внутриклеточного пространства, они активируют урат-анионный обмен, стимулируя таким образом реабсорбцию МК и способствуя развитию гиперурикемии [15, 16]. Возможно, препараты в малых дозах не способны создать достаточную концентрацию в просвете канальца для подавления процесса реабсорбции, но вполне достаточно для обеспечения урат-анионного обмена и посредством этого — почечной секреции МК. Исходя из того, что, с одной стороны, такие препараты как фуросемид, гидрохлортиазид, индометацин, фенилбутазон, салицилаты, сульфипиразон ингибируют URAT1 на апикальной мембране проксимального канальца, а с другой стороны, попадают в клетки канальца с помощью базолатеральной секреции посредством транспортеров органических анионов OAT1 и OAT3, можно предположить наличие пока не идентифицированных обменников, обеспечивающих канальцевую секрецию

названных препаратов в обмен на усиление реабсорбции МК [26]. Эта гипотеза хорошо объясняет гиперурикемический эффект ряда препаратов. Для доказательства правильности этой гипотезы “остается лишь” идентифицировать соответствующие транспортеры или расширить функцию существующих.

Возвращаясь к урикозурическим препаратам, отметим, что в настоящее время проводятся активные исследования новых соединений, стимулирующих экскрецию МК с мочой. К таким лекарственным средствам относятся лезинурад (lesinurad; RDEA594), клинические испытания которого близки к завершению [5, 35]. Лезинурад является активным метаболитом ненуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы и первоначально задумывался как средство для лечения пациентов с ВИЧ-инфекцией. Фазы I и II клинических исследований показали, что у этих пациентов существенно увеличивалась экскреция МК [11]. Исследования позволили выяснить, что лезинурад эффективно ингибирует уратные транспортеры URAT1 и OAT4, обеспечивающие апикальную реабсорбцию урата в проксимальных канальцах [12, 39]. В ходе III фазы клинических исследований выяснилось, что этот препарат значительно усиливает выделение МК, будучи использованным в виде монотерапии, а также при совместном применении с ингибиторами ксантиноксидазы у пациентов с рефрактерной тофусной подагрой [18, 19, 30, 33, 34]. В одном из приведенных исследований первоначальное введение одного фебуксостата не позволило уменьшить плазменное содержание МК ниже 6 мг/дл примерно у 60 % пациентов. Добавление лезинурада обеспечило достижение этих значений у 100 % больных и привело к дальнейшему снижению уровня урата в сыворотке ниже 5 мг/дл [19].

Два других новых урикозурических препарата архалофенат (arhalofenate; MBX-102) и траниласт (tranilast), также ингибирующие транспортеры, обеспечивающие реабсорбцию МК, проходят II фазу клинических исследований. В исследованиях *in vitro* установлено, что низкомолекулярный урикозурический препарат архалофенат, предназначенный для орального применения, ингибирует 3 апикальных транспортера (URAT1, OAT4 и OAT10), что подразумевает перспективу весьма значительного увеличения экскреции МК [24]. Что касается траниласта, в экспериментах *in vitro* показана его способность ингибировать оба основных уратных транспортера: апикальный URAT1 и базолатеральный GLUT9 [27]. И наконец, следует упомянуть о новом потенциально мощном урикозурическом препарате RDEA3170, который проходит в настоящее время I–II фазы клинических испытаний. Удалось выяснить, что точка приложения этого соединения, как и у других ингибиторов URAT1, локализована в пределах функционального центра белковой структуры транспортера. При этом показано, что критическим местом высокоаффинного взаимодействия с RDEA3170 в молекуле URAT1 является фенилаланин

365 [28]. Предполагается его применение как в виде средства монотерапии, так и в виде комбинации с ингибиторами ксантиноксидазы [13].

В заключение отметим, что сведения, полученные благодаря генетическим исследованиям последних 15 лет, позволившие несколько иначе взглянуть на почечный транспорт МК, открывают новые перспективы создания новых урикозурических препаратов для комбинированной терапии, в первую очередь, рефрактерной подагры.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Ю. Штрыголь, О. В. Товчига, О. О. Койро, С. И. Степанова, *Лекарственные растения, почки и обмен мочевой кислоты*, Титул, Харьков (2014).
2. N. Anzai, Y. Kanai, H. Endou, *Cur. Opin. Rheumatol.*, **19**, 151 – 157 (2007).
3. N. Anzai, K. Ichida, P. Jutabha, et al., *J. Biol. Chem.*, **283**(40), 26834 – 26838 (2008).
4. N. Anzai, P. Jutabha, *Clin. Exp. Nephrol.*, **16**, 89 – 95 (2012).
5. M. H. Bach, P. A. Simkin, *Cur. Opin. Rheumatol.*, **26**(2), 169 – 175 (2014).
6. S. Bantia, C. Parker, L. Harman, et al., *Ann. Rheum. Dis.*, **71**, 89 (2012).
7. M. A. Becker, H. R. Jr. Schumacher, R. L. Wortman, et al., *N. Engl. J. Med.*, **353**, 2450 – 2461 (2005).
8. M. A. Becker, H. R. Schumacher, L. R. Espinoza, et al., *Arthritis Res. Ther.*, **12**, R63 (2010).
9. L. A. Bobulescu, O. W. Moe, *Adv. Chronic Kidney Dis.*, **19**(6), 358 – 371 (2012).
10. G. Burckhardt, *Pharmacol. Therap.*, **136**(1), 106 – 130 (2012).
11. C. M. Burns, R. L. Wortmann, *Lancet*, **377**, 165 – 177 (2011).
12. D. Crittenden, M. Pillinger, *Annu. Rev. Med.*, **64**, 325 – 337 (2013).
13. C. Diaz-Torné, N. Perez-Herrero, F. Perez-Ruiz, *Cur. Opin. Rheumatol.*, **27**(2), 164 – 169 (2015).
14. H. Endou, N. Anzai, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **27**, 578 – 584 (2008).
15. A. Enomoto, H. Kimura, A. Chairoungdua, et al., *Nature.*, **417**(6887), 447 – 452 (2002).
16. A. Enomoto, H. Endou, *Clin. Exp. Nephrol.*, **9**, 195 – 205 (2005).
17. E. Fels, J. S. Sundry, *Cur. Opin. Rheumatol.*, **20**, 198 – 202 (2008).
18. R. Fleischmann, Z. Shen, L.-T. Yeh, et al., *Ann. Rheum. Dis.*, **70** (Suppl. 3), 188 (2011).
19. R. L. George, R. T. Keenan, *Cur. Rheumatol. Rep.*, **15**(2), 309 (2013).
20. O. Kocher, N. Comella, K. Tognazzi, L. F. Brown, *Lab. Invest.*, **78**, 117 – 125 (1998).
21. G. Lamprecht, U. Seidler, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **291**, G766 – G777 (2006).
22. R. Fleischmann, B. Kerr, L.-T. Yeh, et al., *Rheumatology*, **53**, 2167 – 2174 (2014).
23. M. A. Hediger, R. J. Johnson, H. Miyazaki, H. Endou, *Am. Physiol. Soc.*, **20**(2), 125 – 133 (2005).
24. B. Lavan, C. McWherrer, Y. Choi, *Ann. Rheum. Dis.*, **71**, 450 (2012).
25. M. Lee, G. Graham, K. Williams, R. Day, *Drug Safety*, **31**, 643 – 665 (2008).
26. M. S. Lipkowitz, *Curr. Rheumatol. Rep.*, **14**, 179 – 188 (2012).
27. A. Mandal, D. Emerling, T. Serafini, *Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology*, Atlanta (2010), pp. 121 – 126.
28. J. Miner, P. Tan, *Ann. Rheum. Dis.*, **71**, 446 (2012).

29. B. J. Pandya, A. A. Riedel, J. P. Swindle, et al., *Cur. Med. Res. Opin.*, **27**, 737 – 744 (2011).
30. F. Perez-Ruiz, J. Sundry, E. Krishnan, et al., *Ann. Rheum. Dis.*, **70** (Suppl. 3), 104 (2011).
31. M. Reinders, E. van Roon, P. Houtman, et al., *Clin. Rheumatol.*, **26**, 1459 – 1465 (2007).
32. M. K. Reinders, E. N. van Roon, T. L. Jansen, et al., *Ann. Rheum. Dis.*, **68**, 51 – 56 (2009).
33. P. Richette, C. Briere, V. Hoenen-Clavert, et al., *J. Rheumatol.*, **34**, 2093 – 2098 (2007).
34. P. Richette, *J. Rheumatol.*, **39**, 1311 – 1313 (2012).
35. P. Richette, R. Garay, *Expert Opin. Drug Discov.*, **8**(2), 183 – 189 (2013).
36. M. Sakiyama, H. Matsuo, S. Shimizu, et al., *Human Cell.*, **27**(1), 1 – 4 (2014).
37. A. So, B. Thorens, *J. Clin. Invest.*, **120**(6), 1791 – 1799 (2010).
38. J. S. Sundry, H. S. Baraf, R. A. Yood, et al., *J. Am. Med. Assoc.*, **306**, 711 – 720 (2011).
39. L. Yeh, Z. Shen, B. Kerr, et al., *Ann. Rheum. Dis.*, **68** (Suppl. 3), 320 (2009).

Поступила 24.10.16

URATE TRANSPORTERS AS TARGETS FOR NEW URICOSURIC DRUGS

Ya. F. Zverev and V. M. Bryukhanov

Altai State Medical University, ul. Lenina 40, Barnaul, Altai Krai, 656038 Russia

Research over the past 15 years have revealed about 10 genes encoding urate transporters associated with serum uric acid levels. It was found that mutations of these genes can lead to the development of renal hyperuricemia. Identification of the urate transporters opens the prospect of creating new uricosuric drugs that are potential alternatives for the treatment of patients with refractory gout diagnosis, insensitive to xanthine oxidase inhibitors such as allopurinol and febuxostat.

Keywords: uric acid; renal transport; uricosuric drugs.