

Перспективы фармакотранскриптомных маркеров для прогнозирования эффективности микофеноловой кислоты у детей со стероидзависимым нефротическим синдромом

В.П. Пахомова¹, С.Л. Морозов^{1,2}, В.Ю. Воинова^{1,2}, А.Б. Шиманова³

¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева» (Институт Вельтищева) ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия

The potential of pharmacotranscriptomic markers for predicting mycophenolic acid efficacy in children with steroid-dependent nephrotic syndrome

V.P. Pakhomova¹, S.L. Morozov^{1,2}, V.Yu. Voinova^{1,2}, A.B. Shimanova³

¹Veltitshev Research and Clinical Institute for pediatrics and pediatric surgery, Moscow, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

³Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Нефротический синдром — одна из самых частых гломерулопатий детского возраста. Примерно у 50% пациентов с нефротическим синдромом формируется зависимость от стероидной терапии, что требует включения схемы лечения селективной иммуносупрессивной терапии. Одним из перспективных препаратов стероидзависимого нефротического синдрома признана микофеноловая кислота, которая в настоящее время служит основой иммуносупрессивной терапии синдрома. В приведенном исследовании оценивается значение определения экспрессии генов, отвечающих за метаболизм микофеноловой кислоты, у пациентов со стероидзависимым нефротическим синдромом для поддержания стойкой клинико-лабораторной ремиссии заболевания. Продemonстрированы клиническая значимость и роль экспрессии генов *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9* и *UGT2B7* как потенциальных маркеров повышенного риска рецидивов. Это открывает перспективы применения транскриптомного подхода для выявления пациентов, нуждающихся в осторожном подборе фармакотерапии. Несмотря на полученные результаты, изменения в экспрессии метаболических ферментов представляют собой важный, но не единственный фактор эффективности терапии. На основе этих данных в будущем станет возможным разрабатывать стратегии мониторинга, направленные на индивидуализацию лечения и повышение его эффективности.

Ключевые слова: дети, нефротический синдром, микофеноловая кислота, *MDR1*, *UGT*, экспрессия, персонализированная медицина.

Для цитирования: Пахомова В.П., Морозов С.Л., Воинова В.Ю., Шиманова А.Б. Перспективы фармакотранскриптомных маркеров для прогнозирования эффективности микофеноловой кислоты у детей со стероидзависимым нефротическим синдромом. Рос вестн перинатол и педиатр 2024; 69(5): 65–74. DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-5-65-74

Nephrotic syndrome is one of the most common glomerular diseases in childhood. It is known that about half of patients with nephrotic syndrome develop dependence on steroid therapy, which requires the inclusion of a treatment regimen of selective immunosuppressive therapy. Mycophenolic acid (MPA) has been identified as a promising drug for steroid-resistant nephrotic syndrome, and it forms the basis of immunosuppressive therapy for this condition. The present study evaluates the importance of determining the expression of genes responsible for the metabolism of mycophenolic acid in patients with steroid-dependent nephrotic syndrome to maintain stable clinical and laboratory remission of the disease. The article demonstrates the significance and role of *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9* and *UGT2B7* gene expression as potential markers of increased risk of relapses and opens up prospects for the use of a transcriptomic approach to identify patients who require careful selection of pharmacotherapy. Although the results obtained are promising, changes in the expression of metabolic enzymes are only one of several factors that contribute to the effectiveness of treatment. Based on these data, it may be possible in the future to develop personalized monitoring strategies that can help tailor treatment to individual patients and increase its effectiveness.

Key words: children, nephrotic syndrome, mycophenolic acid, *MDR1*, *UGT*, expression, personalized medicine.

For citation: Pakhomova V.P., Morozov S.L., Voinova V.Yu., Shimanova A.B. Prospects of pharmacotranscriptomic markers for predicting mycophenolic acid efficacy in children with steroid-dependent nephrotic syndrome. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2024; 69(5): 65–74 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-5-65-74

© Коллектив авторов, 2024

Адрес для корреспонденции: Морозов Сергей Леонидович — к.м.н., вед. науч. сотр. отдела наследственных и приобретенных болезней почек им. проф. М.С. Игнатовой Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, доц. кафедры госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0000-0002-0942-0103

Пахомова Виктория Павловна — лаборант-исследователь лаборатории клинической геномики и биоинформатики Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0009-0006-1646-8427

Воинова Виктория Юрьевна — д.м.н., рук. отдела клинической генетики Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, зав. кафедрой общей и медицинской генетики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0000-0001-8491-0228

125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Шиманова Александра Борисовна — ординатор кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0009-0005-2705-648X

420012 Казань, ул. Бутлерова, д. 49

Нефротический синдром — одна из наиболее распространенных и сложных форм детских гломерулопатий, характеризующаяся массивной протеинурией, гиперлипидемией и выраженными отеками. Первые описания нефротического синдрома как самостоятельного заболевания появились в медицинской литературе в середине XIX века. С тех пор достигнут значительный прогресс в лечении: от простых симптоматических методов, таких как низкосолевого диеты и обертывания травяными экстрактами, до современных сложных фармакотерапевтических схем терапии [1, 2].

Главный прорыв в терапии нефротического синдрома произошел в середине XX века с открытием и началом применения глюкокортикостероидов [1]. Стероидные препараты хорошо зарекомендовали себя в клинической практике благодаря быстрому и эффективному устранению симптомов заболевания, что позволило достичь ремиссии при первом эпизоде нефротического синдрома у 80% детей и значительно снизило детскую смертность до 3% [3, 4]. В связи с этим в настоящее время стероидные препараты составляют основу терапии первичного нефротического синдрома, что нашло отражение как в зарубежных, так и отечественных клинических рекомендациях. Однако, несмотря на высокую эффективность глюкокортикостероидов, вскоре стало очевидно, что не все пациенты одинаково хорошо реагируют на стероидную терапию: появились описания стероидзависимых и стероидрезистентных форм, частота которых ежегодно увеличивается и в настоящее время превышает 31% [5]. Формирование стероидной зависимости или резистентности зачастую приводят к неоправданно длительной терапии стероидными препаратами, что приводит к тяжелым нежелательным последствиям терапии глюкокортикостероидами, включая ожирение, задержку роста, остеопороз, артериальную гипертензию, катаракту [3].

Невозможность использования стероидов как универсальной терапевтической схемы стимулировала поиск альтернативных методов лечения и привела к внедрению тактик на основе иммуносупрессивной терапии. В качестве таковой применяют ингибиторы кальциневрина (такролимус, циклоспорин), ингибиторы инозинмонофосфатдегидрогеназы (микофеноловая кислота), моноклональные антитела (ритуксимаб) и др. [6].

В настоящее время одним из наиболее распространенных препаратов второй линии в терапии нефротического синдрома является микофеноловая кислота. Введение микофеноловой кислоты в клиническую практику стало важным этапом в терапии нефротического синдрома, особенно для детей со стероидзависимыми и стероидрезистентными формами заболевания. Благодаря большой широте терапевтического действия, препарат продемонстрировал

хорошую эффективность при меньшем количестве побочных эффектов по сравнению с ингибиторами кальциневрина, что особенно важно в педиатрической нефрологии [7].

Фармакологическое действие микофеноловой кислоты обусловлено ее способностью селективно ингибировать инозинмонофосфатдегидрогеназу (ИМФДГ) — ключевой фермент, необходимый для синтеза гуанозинового нуклеотида по пути *de novo*. В организме инозинмонофосфатдегидрогеназа представлена в виде двух изоформ: ИМФДГ-1, представленная в большинстве клеток, и ИМФДГ-2, преимущественно экспрессируемая в лимфоцитах. Микофеноловая кислота ингибирует ИМФДГ-2 в 4–5 раз сильнее, чем ИМФДГ-1, что обуславливает более выражено цитостатическое действие на лимфоциты по сравнению с другими клетками [8].

Ингибирование инозинмонофосфатдегидрогеназы приводит к истощению запасов гуанозина в клетке, что ограничивает синтез ДНК и РНК и нарушает биосинтетические процессы, угнетая пролиферацию и функционирование клеток. Большинство клеток организма способно синтезировать пуриновые нуклеотиды альтернативным способом — по пути спасения. Однако Т- и В-лимфоциты зависят от пути *de novo*, что позволяет микофеноловой кислоте селективно воздействовать на лимфоциты, минимизируя риск побочных эффектов [9, 10]. Другой фармакологически значимый эффект ингибиторов инозинмонофосфатдегидрогеназы — снижение продукции иммуноглобулинов и воспалительных цитокинов, что приводит к уменьшению воспалительной реакции, часто сопровождающей повреждение гломерул при нефротическом синдроме [11]. Комплексное воздействие микофеноловой кислоты на различные аспекты иммунного ответа делает ее эффективным средством для контроля рецидивов нефротического синдрома, особенно у детей со стероидзависимыми формами заболевания.

Одно из ключевых преимуществ микофеноловой кислоты состоит в ее более благоприятном профиле безопасности, что особенно важно для детей, которым требуется длительная иммуносупрессивная терапия. В отличие от ряда других препаратов микофеноловая кислота не обладает нефротоксичностью и не ассоциируется с развитием артериальной гипертензии или гипергликемии. Однако почти 50% пациентов, принимающих микофеноловую кислоту, могут сталкиваться с побочными эффектами, включая анемию, лейкопению и желудочно-кишечные расстройства, что требует пристального наблюдения за пациентами [12, 13].

Значительной проблемой в применении микофеноловой кислоты остается высокая вариабельность ее фармакокинетики и фармакодинамики: пациенты, получающие одинаковые дозы препарата, могут демонстрировать разные клинические результаты.

Лечение микофеноловой кислотой часто сопровождается фармакокинетическим мониторингом. Однако известно, что достижение оптимальных уровней препарата на ранних этапах лечения коррелирует с лучшими клиническими исходами. Это подчеркивает важность точного подбора дозы на начальных этапах терапии для повышения ее эффективности [12, 14].

На фармакокинетику и фармакодинамику микофеноловой кислоты у детей могут влиять различные факторы, включая возраст, тип заболевания, сопутствующая терапия и генетические особенности. В последнее время все больше внимания уделяется фармакогенетическим подходам, направленным на поиск полиморфизмов или изменений в активности генов, которые могут быть связаны с изменением метаболизма и эффективности препарата.

Идентификация генов-кандидатов, уровень экспрессии которых возможно использовать для прогнозирования реакции на микофеноловую кислоту, имеет важное клиническое значение. В качестве потенциальных молекулярных маркеров, как правило, рассматриваются гены, кодирующие ферменты, которые участвуют в транспорте, метаболизме или механизмах действия препарата. Поиск таких маркеров требует детального изучения фармакокинетических и фармакодинамических путей препарата в организме.

В клинической практике микофеноловую кислоту, как правило, принимают перорально в виде сложного эфира — микофенолата мофетила, (ММФ) или натриевой соли — микофенолата натрия (МФН), что способствует улучшению биодоступности.

После приема микофенолата мофетила препарат быстро всасывается в кишечнике и гидролизруется до микофеноловой кислоты карбоксилэстеразами энтероцитов и гепатоцитов. В дальнейшем микофеноловая кислота проходит через вторую фазу метаболизма в гепатоцитах, где подвергается глюкуронированию ферментами семейства уридин-5-дифосфат-глюкуронозилтрансфераз (UGT). К основным UGT, вовлеченным в этот процесс, относятся UGT1A7 и UGT1A9: эти ферменты преобразуют микофеноловую кислоту в малоактивный МФК-глюкуронид.

Другой важный фермент из группы UGT — UGT2B7, преобразующий микофеноловую кислоту в ацил-МФК-глюкуронид (ацилглюкуронид микофеноловой кислоты; ацМФКГ), который обладает токсичными свойствами и индуцирует высвобождение цитокинов из лейкоцитов. Предполагается, что он обуславливает ряд побочных эффектов, включая токсичность в отношении желудочно-кишечного тракта. В плазме пациентов, получающих микофенолата мофетил, также обнаруживаются другие метаболиты: фенольный и ацильный глюкозиды и деметилированный метаболит, образующиеся в малых количествах под действием цитохромов печени [8, 12].

Выведение микофеноловой кислоты происходит преимущественно с мочой в виде МФК-глюкуронида. Метаболиты также выделяются в желчь с помощью транспортных белков MRP2 и в меньшей степени MDR1. После этого они подвергаются энтерогепатической рециркуляции, в ходе которой вновь деконъюгируют до микофеноловой кислоты в кишечнике и реабсорбируются [13].

Метаболизм микофеноловой кислоты имеет важное клиническое значение, так как активность и уровень экспрессии таких белков, как UGT, MRP2 и MDR1, может значительно варьировать у разных пациентов, что потенциально влияет на концентрацию активной микофеноловой кислоты в крови и, соответственно, на эффективность терапии. Так, продемонстрировано, что экспрессия гена *MDR1* может влиять на фармакокинетику и фармакодинамику такролимуса, однако подобной оценки в контексте микофеноловой кислоты не проводилось [12]. Предполагается, что увеличенная экспрессия ферментов семейства UGT может приводить к быстрому превращению микофеноловой кислоты в ее малоактивные формы и снижать терапевтическое действие препарата. В то же время сниженная активность UGT может приводить к повышению уровня микофеноловой кислоты в крови и повышать риск развития нежелательных эффектов.

Множество исследований подтвердили, что полиморфизмы в генах, кодирующих белки семейства UGT, могут существенно влиять на метаболизм микофеноловой кислоты. Так, в крупном метаанализе, проведенном М. Takuathung и соавт. (2021) [15], подтверждено влияние ряда полиморфизмов в генах *UGT1A9*, *UGT1A8*, *UGT2B7* и *SLCO1B1* на фармакокинетику микофеноловой кислоты. Эти генетические вариации подчеркивают необходимость персонализированного подхода к лечению и мониторинга уровня микофеноловой кислоты в крови для достижения оптимального терапевтического эффекта при минимальных побочных реакциях [15].

Другими исследователями были изучены полиморфизмы, влияющие на экспрессию *UGT1A9* и *UGT2B7*. Например, носители аллелей rs2741045 и rs2741046 демонстрируют значительно более высокую экспрессию *UGT1A9* в печени по сравнению с носителями дикого типа. У лиц с полиморфизмом *UGT2B7* rs7438135 наблюдается повышенный уровень ацМФКГ, а носители 79G>A демонстрируют снижение каталитической активности UGT2B7 в 2,5–7 раз [16]. В исследовании М.С. Жоу и соавт. [17] (2010), изучавших влияние полиморфизмов UGT на фармакокинетику микофеноловой кислоты, установлено, что генетические факторы объясняют около 10% вариабельности фармакокинетики. Это свидетельствует о важности учета не только генотипа пациента, но и других факторов, влияющих на экспрессию генов [17, 18].

Современная медицина все больше ориентируется на принципы персонализированной терапии, в которой фармакогенетические подходы признаны перспективными для оптимизации выбора лекарственных препаратов и индивидуализации их дозировок. Понимание вклада генетических факторов в фенотип в количественном выражении признано важным аспектом разработки персонализированных стратегий лечения. Помимо молекулярно-генетического анализа полиморфизмов, влияющих на первичную структуру белков, предлагается систематическое использование экспрессии для количественной оценки роли этих факторов в транскрипции и процессинге мРНК. Приводим фрагмент большого исследования, направленного на определение значения экспрессии генов *UGT* и *MDR1* как фармако-транскриптомных маркеров эффективности микофеноловой кислоты у детей со стероидзависимым нефротическим синдромом.

Цель исследования: оценка роли определения экспрессии генов, отвечающих за метаболизм микофеноловой кислоты, у пациентов со стероидзависимым нефротическим синдромом для поддержания стойкой клинико-лабораторной ремиссии заболевания.

Характеристика детей и методы исследования

В период 2021–2023 гг. на базе отделения нефрологии научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева проводилось открытое кагортное проспективное сравнительное нерандомизированное в исследование, посвященное оценке эффективности использования микофеноловой кислоты у пациентов со стероидзависимым нефротическим синдромом. Все дети, вошедшие в исследование, в качестве иммуносупрессивной терапии принимали микофеноловую кислоту. При этом для оценки эффективности терапии микофеноловой кислотой оценивалась частота рецидивов заболевания за 12 мес.

В исследование были включены 44 пациента в возрасте от 1 до 18 лет, которым был диагностирован идиопатический нефротический синдром. Критерием включения было наличие стероидзависимого нефротического синдрома, определяемого как возникновение двух последовательных рецидивов заболевания на фоне терапии преднизолоном или в течение 2 нед после отмены глюкокортикостероидов.

В группе было 24 (54,6%) мальчика и 20 (45,4%) девочек. На момент исследования средний возраст детей составлял $9 \pm 4,1$ года: девочек — $8,9 \pm 3,8$ года, мальчиков — $9 \pm 4,4$ года. Возраст манифестации нефротического синдрома у детей составил $5,2 \pm 3,2$ года: у мальчиков $5,3 \pm 3,1$ года и у девочек $6,2 \pm 3,4$ года. У большинства детей стероидная зависимость формировалась через $17,8 \pm 10,3$ мес от начала манифестации заболевания.

Всем детям проведено общее лабораторное и инструментальное обследование, включающее клинический анализ крови, общий анализ мочи, суточную экскрецию белка с мочой, биохимический анализ крови, ультразвуковые исследования почек, определение функционального состояния почек. Для оценки эффективности лечения микофеноловой кислотой пациентам проводили исследование экспрессии генов *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7*, при этом использовали 5 мкл очищенного образца РНК при концентрации 20 нг/мкл. Гибридизацию с молекулярными зондами Reporter CodeSet и Capture ProbeSet, а также работу с приборами Prep Station и Digital Analyzer выполняли в соответствии с протоколами, предоставленными производителем. Полученные данные об экспрессии генов выражены в условных единицах (число молекул РНК на объем образца в запуске). Предварительную обработку данных и контроль качества осуществляли с использованием программного обеспечения nSolver (NanoString Technologies, США).

Кроме того, всем детям, вошедшим в исследование, определяли концентрацию микофеноловой кислоты в крови не менее через 7 дней от начала терапии. Количественное определение микофеноловой кислоты в плазме крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Для анализа отбирали образцы плазмы крови в пробирку с K2-ЭДТА. Процедура пробоподготовки плазмы крови включала несколько этапов: к образцу плазмы 200 мкл добавляли 600 мкл метанола и 570 мкл ацетонитрила, перемешивали на шейкере при 2200 об/мин в течение 2 мин, затем центрифугировали в течение 10 мин при скорости 13 000 об/мин и потом переносили по 300 мкл надосадочного слоя в микропланшет на 96 лунок для анализа на хроматографической системе.

Хроматографическая система включала жидкостной хроматограф модели LC-30AD с системой автоматического ввода образцов SIL-30AC, термостатом колонки модели CTO-20AC и дегазатором модели DGU-20A5R (Shimadzu). Разделение осуществлялось на хроматографической колонке Phenomenex Kinetex EVO C18, 2.6 μ m, 50*2.1 mm (P/N 00B-4725-AN) с предколонкой для ВЭЖХ Phenomenex Kinetex EVO C18, 2.6 μ m (P/N AJ0-9298). Детектирование осуществлялось на масс-спектрометре AB Sciex Triple Quad 5500+ с электрораспылительной ионизацией. Обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Analyst и SciexOS.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) с применением общепринятых параметрических и непараметрических методов анализа. Все статистические тесты выполняли с использованием двусторонних критериев и уров-

Таблица. Концентрация микофеноловой кислоты в крови и уровень экспрессии генов *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7* у детей со стероидзависимым нефротическим синдромом

Table. Blood mycophenolic acid concentration level and expression level of *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7* genes in children with steroid-dependent nephrotic syndrome

Группа	Число детей	Концентрация микофеноловой кислоты, мкг/мл	Уровень экспрессии генов, усл. ед.			
			<i>MDR1</i>	<i>UGT1A7</i>	<i>UGT1A9</i>	<i>UGT2B7</i>
I. Стойкая ремиссия	23	4,61 [3,33; 5,82]	133,0 [91,94; 159,6]	2,96 [2,13; 3,81]	2,21 [1,36; 3,24]	1,82 [1,00; 2,24]
II. Рецидивирующее течение	21	1,40 [0,94; 2,35]	119,6 [105,8; 142,6]	5,18 [3,46; 10,24]	4,61 [3,46; 9,98]	5,04 [3,56; 11,05]
P_{I-II}		0,0001*	0,4	0,0014*	0,0032*	0,0001*

Примечание. * — достоверные различия при сравнении пациентов со стойкой клинико-лабораторной ремиссией заболевания и пациентов с рецидивами заболевания.

нем достоверности 0,05, значения p рассчитывали с точностью до двух десятичных знаков. Графическое оформление результатов выполнено с использованием программного пакета GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software Inc., США).

Результаты исследования

Все дети, вошедшие в исследование, принимали микофеноловую кислоту, при этом ее дозировка составляла 1090 [900; 1230] мг/1,73 м² поверхности тела. Дозировка в группе детей со стероидзависимым нефротическим синдромом, имеющих рецидивы нефротического синдрома, составляла 1100 [900; 1440] мг/1,73 м² поверхности тела, а у детей со стойкой клинико-лабораторной ремиссией заболевания — 1024 [900; 1200] мг/1,73 м² поверхности тела. Между группами достоверной разницы в дозировке принимаемого препарата не получено ($p=0,7$; рис. 1).

Кроме того, у всех детей с нефротическим синдромом, входящих в исследование, определяли концентрацию препарата в крови в C_0 и экспрессию генов *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7*. Результаты представлены отдельно, как у детей, имеющих рецидивы заболевания, так и у детей со стойкой клинико-лабораторной ремиссией (см. таблицу).

У детей со стойкой клинико-лабораторной ремиссией заболевания концентрация микофеноловой кислоты была достоверно выше (в 3,3 раза), чем у детей, которые имели рецидивы заболевания. При сравнении исследуемых групп методом сравнения множественных независимых групп Краскела–Уоллиса получены достоверные различия между концентрацией микофеноловой кислоты в крови у пациентов со стойкой клинико-лабораторной ремиссией нефротического синдрома и у детей, имеющих рецидивы заболевания ($p=0,0001$; рис. 2). Кроме оценки достоверных различий концентрации микофеноловой кислоты в крови у пациентов исследуемых групп, проведен корреляционный анализ Спирмена для оценки степени связи концентрации микофеноловой кислоты и частоты рецидивов за 12 мес иммуносупрессивной терапии. В результате установлена

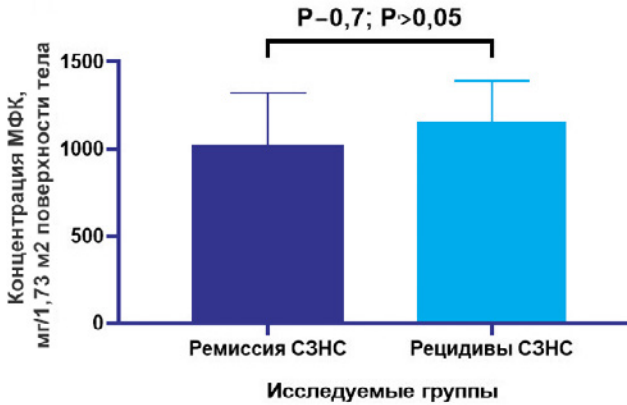


Рис. 1. Концентрация микофеноловой кислоты (МФК) у детей с рецидивами стероидзависимого нефротического синдрома (СЗНС) и без таковых.

Fig. 1. Mycophenolic acid concentration in children with and without relapses of the disease.

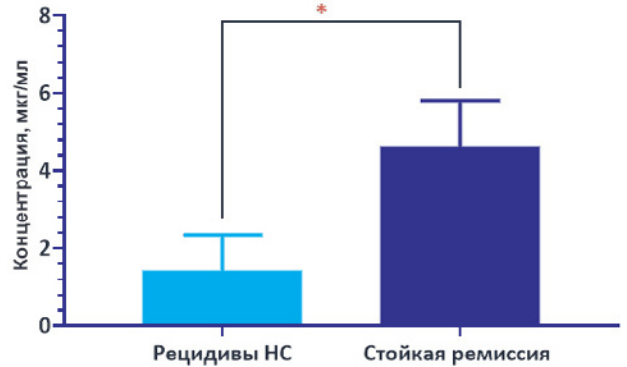


Рис. 2. Разница между концентрацией микофеноловой кислоты в крови у пациентов со стойкой клинико-лабораторной ремиссией и рецидивами нефротического синдрома (НС). Верхние границы столбцов — медиана; вертикальные линии — 95% доверительный интервал; * — достоверная разница при $p<0,0001$.

Fig. 2. Difference between blood mycophenolic acid concentration levels in patients with persistent clinical and laboratory remission and relapses of nephrotic syndrome.

Upper boundaries of columns — median; vertical lines — 95% confidence interval; * — significant difference at $p<0.0001$.

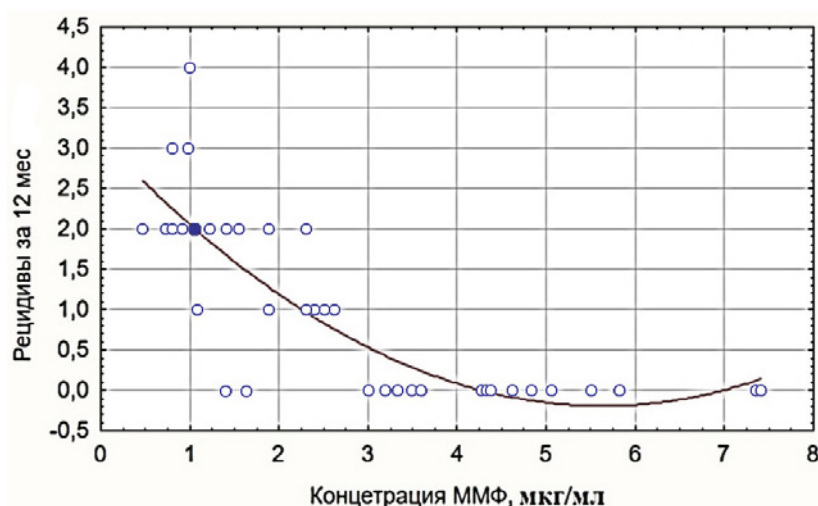


Рис. 3. Связь концентрации микофеноловой кислоты (ММФ) в крови и частоты рецидивов нефротического синдрома.

Fig. 3. Relationship between the level of mycophenolic acid concentration in the blood and the frequency of relapses of nephrotic syndrome.

прямая тесная связь концентрации микофеноловой кислоты и частоты рецидивов нефротического синдрома ($r=0,64$; $p<0,05$) (рис. 3).

В качестве потенциальных маркеров эффективности микофеноловой кислоты у детей со стероид-зависимым нефротическим синдромом мы рассматриваем экспрессию генов *MDR1*, *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7*. Установлено, что экспрессия гена *MDR1* не демонстрирует статистически значимых различий между пациентами с рецидивирующим течением заболевания и пациентами, находящимися в стойкой ремиссии (рис. 4, а). Наиболее значимые результаты получены при оценке экспрессии генов *UGT*. В ходе анализа выявлено, что уровень экспрессии

гена *UGT1A7* (в 1,8 раза) у пациентов с рецидивами нефротического синдрома был достоверно выше, чем у пациентов, которые имели стойкую клинко-лабораторную ремиссию заболевания ($p=0,0014$; рис. 4, б). Та же закономерность отмечается и при оценке экспрессии генов *UGT1A9* и *UGT2B7*, уровень которых был достоверно выше у пациентов, имеющих рецидивы заболевания: в 2,1 ($p=0,0032$) и 2,8 ($p<0,0001$) раза соответственно (рис. 4, в, г).

С целью оценки взаимосвязи концентрации микофеноловой кислоты в крови и уровнем экспрессии генов *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7* у исследуемых пациентов проведен корреляционный анализ Спирмена, в результате которого установлена прямая связь уров-

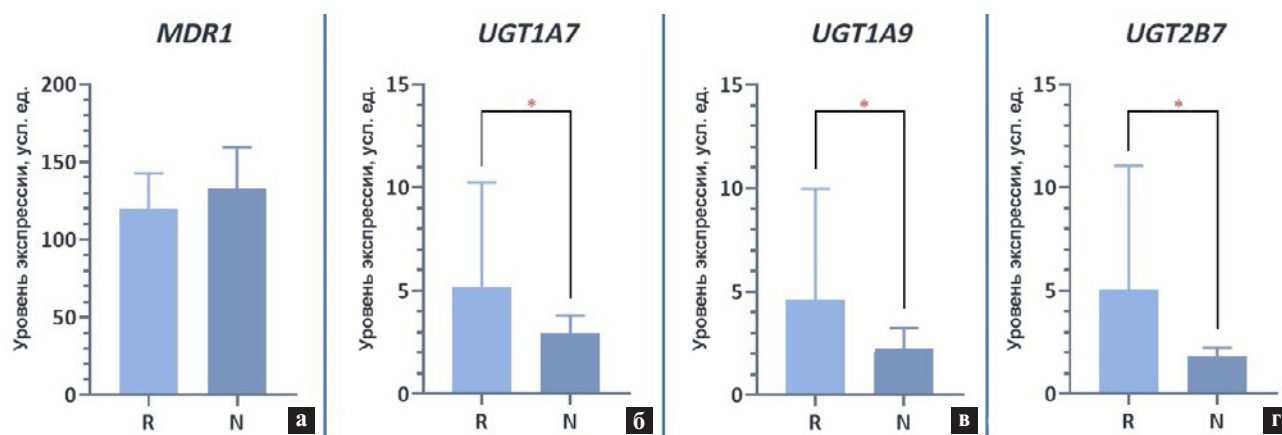


Рис. 4. Результаты оценки экспрессии исследуемых генов у пациентов, получающих терапию микофеноловой кислотой, со стойкой клинко-лабораторной ремиссией и рецидивами нефротического синдрома.

R — рецидивы нефротического синдрома; N — стойкая клинко-лабораторная ремиссия заболевания; верхние границы столбцов — медиана; вертикальные линии — 95% доверительный интервал; * — достоверная разница при $p<0,01$; ** — достоверная разница при $p<0,0001$.

Fig. 4. Results of the expression assessment of the studied genes in patients receiving mycophenolic acid therapy with persistent clinical and laboratory remission and relapses of nephrotic syndrome.

R — relapses of nephrotic syndrome; N — persistent clinical and laboratory remission of the disease; upper boundaries of the columns — median; vertical lines — 95% confidence interval; * — significant difference at $p<0,01$; ** — significant difference at $p<0,0001$.

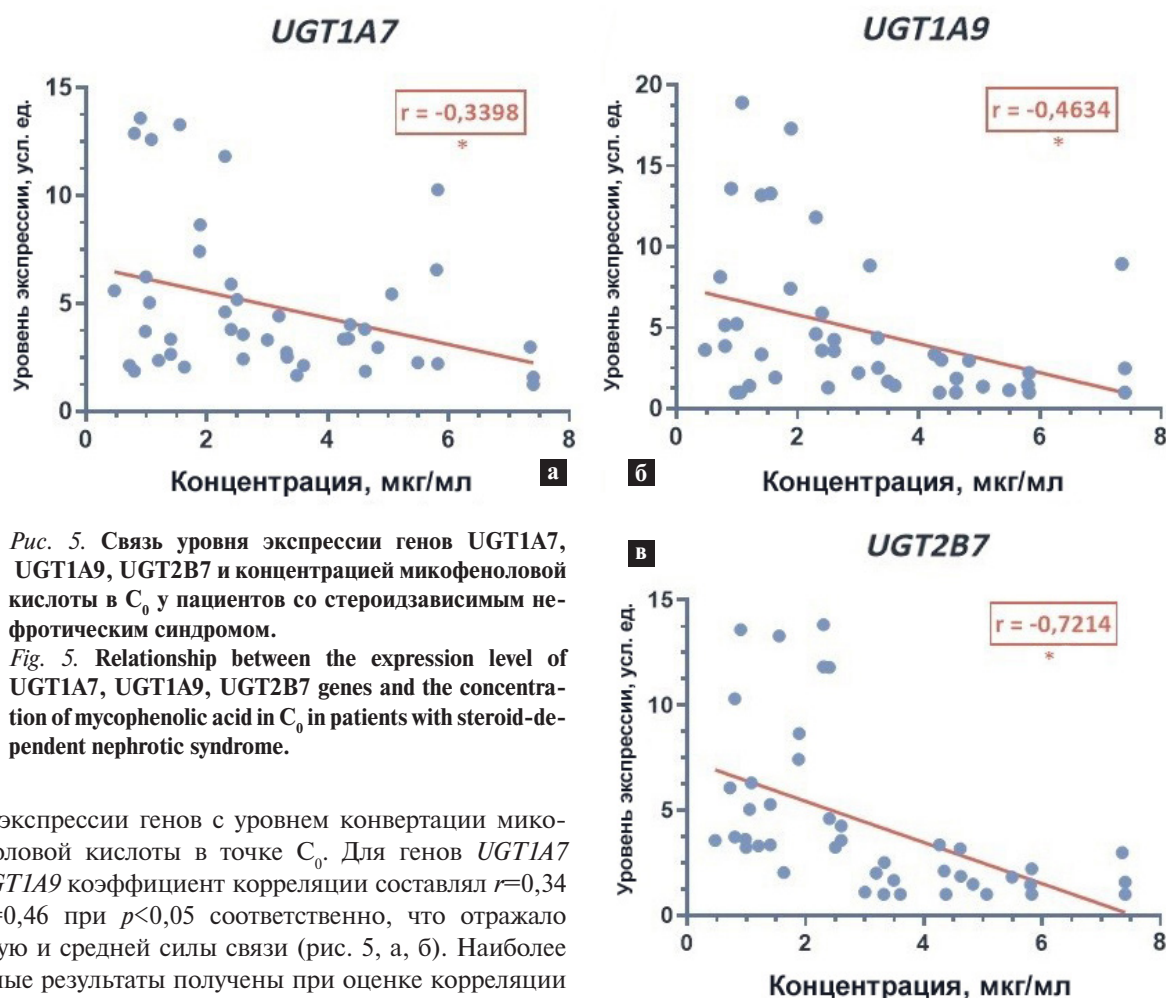


Рис. 5. Связь уровня экспрессии генов UGT1A7, UGT1A9, UGT2B7 и концентрацией микофеноловой кислоты в C_0 у пациентов со стероидзависимым нефротическим синдромом.

Fig. 5. Relationship between the expression level of UGT1A7, UGT1A9, UGT2B7 genes and the concentration of mycophenolic acid in C_0 in patients with steroid-dependent nephrotic syndrome.

ней экспрессии генов с уровнем конвертации микофеноловой кислоты в точке C_0 . Для генов UGT1A7 и UGT1A9 коэффициент корреляции составлял $r=0,34$ и $r=0,46$ при $p<0,05$ соответственно, что отражало слабую и средней силы связи (рис. 5, а, б). Наиболее важные результаты получены при оценке корреляции экспрессии гена UGT2B7, который демонстрировал сильную связь ($r=0,72$; $p<0,05$; рис. 5, в).

Обсуждение

В ходе исследования проанализировано влияние уровней экспрессии гена *MDR1* и генов, кодирующих *UGT*, на фармакокинетику микофеноловой кислоты у детей, страдающих стероидзависимым нефротическим синдромом. Полученные данные свидетельствуют, что экспрессия гена *MDR1* не демонстрирует статистически значимых различий между пациентами с рецидивирующим течением заболевания и пациентами, находящимися в стойкой ремиссии. Из этого следует, что экспрессия *MDR1*, по-видимому, не играет ведущую роль в определении фармакокинетики микофеноловой кислоты у пациентов данной категории. Отсутствие корреляции между уровнем экспрессии *MDR1* и концентрацией микофеноловой кислоты в крови также подтверждает этот вывод.

MDR1, также известный как Р-гликопротеин, участвует в транспорте и выведении различных лекарственных веществ через клеточные мембраны. Хотя роль *MDR1* в метаболизме таких препаратов, как преднизолон, циклоспорин и такролимус, подтверждена и хорошо изучена, вклад этого фермента в метаболизм микофеноловой кислоты остается

не столь значительным. Существующие данные литературы о роли *MDR1* в метаболизме микофеноловой кислоты неоднозначны. Основным белком, ответственным за транспорт микофеноловой кислоты через клеточные мембраны, является *MRP2*, кодируемый геном *ABCC2*, хотя известно, что микофеноловая кислота также может быть субстратом и для *MDR1* [17–20]. В нашем предыдущем исследовании, включавшем пациентов с различными формами нефротического синдрома, экспрессия *MDR1* достоверно отличалась между группами. Однако в настоящем исследовании, сосредоточенном на анализе пациентов со стероидзависимым нефротическим синдромом, такие различия не подтверждены [18]. Корреляционный анализ также не выявил статистически значимой связи между уровнем экспрессии *MDR1* и концентрацией активной формы микофеноловой кислоты в крови. Эти результаты укрепляют гипотезу о минимальном влиянии *MDR1* на метаболизм микофеноловой кислоты в контексте нефротического синдрома у детей.

В отличие от гена *MDR1*, анализ экспрессии генов, кодирующих *UGT*, выявил статистически значимые различия между группами пациентов по всем трем изученным трансферазам. Повышенная экс-

прессия генов *UGT1A7*, *UGT1A9*, *UGT2B7* у пациентов с рецидивирующим течением нефротического синдрома сопровождается снижением концентрации микофеноловой кислоты в крови. Это указывает на ключевую роль глюкуронирования в метаболизме микофеноловой кислоты и, соответственно, в эффективности терапии.

Ранее в литературе отмечалась корреляция между уровнем экспрессии ферментов *UGT* и активностью глюкуронирования, что привело к возникновению предположений о влиянии экспрессии этих ферментов на метаболизм микофеноловой кислоты. Установлено, что экспрессия генов *UGT* в гепатоцитах взрослых людей демонстрирует значительную межиндивидуальную вариабельность, достигая 17-кратного различия, а активность глюкуронирования может отличаться в 9,5 раза [21]. Таким образом, была сформулирована гипотеза, что высокая экспрессия этих генов ведет к более эффективному глюкуронированию и ускоряет выведение микофеноловой кислоты, снижая концентрацию биологически активной формы препарата в крови, что приводит к уменьшению эффективности препарата. Полученные нами результаты поддерживают эту гипотезу и подчеркивают биохимическую значимость уридин-5-дифосфат-глюкуронилтрансфераз.

Следует отметить, что хотя коэффициенты корреляции указывают на статистически значимую связь между уровнем экспрессии генов *UGT* и концентрацией микофеноловой кислоты, они не всегда полностью объясняют клинические исходы у всех пациентов. Среди пациентов с низкой концентрацией микофеноловой кислоты в крови наблюдались случаи низкой экспрессии *UGT*, что указывает на наличие других факторов, влияющих на метаболизм и эффективность терапии. Например, в исследовании D. Yар. и соавт. [22] (2020), изучавших факторы, влияющие на фармакокинетику микофеноловой кислоты у пациентов с волчаночным нефритом, установлено, что площадь под кривой (AUC_{0–12}) коррелировала с гематологическими показателями, уровнем иммуноглобулинов и инфекциями.

Кроме того, следует учитывать, что фармакокинетика и фармакодинамика лекарственных средств изменяется с возрастом, и некоторые исследователи связывают это в том числе с онтогенетическими изменениями экспрессии ключевых метаболических ферментов. Так, уровни экспрессии многих *UGT* достигают уровней взрослых только к 10 годам, что, ввиду особенностей нашей выборки, могло повлиять на полученные нами результаты [7]. Кроме того, большую роль могут играть полиморфизмы, влияние на фармакокинетику которых может быть связано не только с изменением экспрессии *UGT*, но и с такими факторами, как изменение сродства фермента к микофеноловой кислоте или изменение метаболической активности фермента [21, 23].

Дополнительным аспектом в контексте нефротического синдрома может быть влияние глюкокортикоидов, которые могут индуцировать экспрессию *UGT* в гепатоцитах. Полученные нами данные о роли *UGT* как одного из факторов клинической неэффективности микофеноловой кислоты могут свидетельствовать о необходимости с осторожностью применять микофенолат мофетил и микофеноловую кислоту у пациентов, ранее получавших лечение глюкокортикоидными препаратами [17].

Таким образом, наши результаты свидетельствуют, что, хотя экспрессия генов *UGT* играет важную роль в фармакокинетике микофеноловой кислоты, она не единственный фактор, определяющий клинический исход. Это подчеркивает необходимость комплексного подхода к лечению и мониторингу, учитывающего как генетические, так и биохимические и клинические показатели для оптимизации терапии стероидзависимого нефротического синдрома у детей.

Несмотря на то что наибольший вклад в глюкуронирование микофеноловой кислоты вносит фермент *UGT1A9*, наше исследование показало наиболее сильную корреляцию между экспрессией и концентрацией для *UGT2B7*. Это может быть связано с тем, что у детей экспрессия *UGT2B7* относительно выше, чем *UGT1A9*, что изменяет вклад этих ферментов в конъюгацию микофеноловой кислоты [24]. Кроме того, ацМФКГ, образующийся под действием *UGT2B7*, фармакологически активен и оказывает токсическое действие, включающее высвобождение медиаторов воспаления, что также может быть клинически значимым фактором риска развития рецидивов [25]. Наши результаты подтверждают роль *UGT2B7* как одного из ключевых факторов, влияющих на стероидную зависимость и риск рецидивов, однако полезными будут дальнейшие исследования, направленные на определение связи экспрессии *UGT2B7* с частотой нежелательных явлений.

Прогностическая значимость наших результатов может быть использована для разработки персонализированных терапевтических схем. Пациенты с высокой экспрессией генов уридин-5-дифосфат-глюкоронилтрансфераз могут быть более подвержены риску рецидивов, что делает их потенциальными кандидатами для корректировки дозировки или пересмотра схемы терапии. Целесообразность подобного подхода обусловлена тем, что своевременный оптимальный подбор терапии для пациентов с нефротическим синдромом может снизить частоту рецидивов и улучшить долгосрочный прогноз заболевания. Это особенно важно для детской популяции, в которой терапия должна быть максимально безопасной и эффективной.

Полученные нами данные имеют важное практическое значение для внедрения методов персонализированной медицины в клиническую практику.

Возможность прогнозирования рецидивов на основе экспрессии генов *UGT* открывает новые перспективы в лечении детей с нефротическим синдромом, позволяя адаптировать терапию под транскриптомные особенности пациента. Однако следует понимать, что изменения транскриптомного профиля — лишь один из факторов низкой эффективности терапии, и будущие методы подбора и мониторинга терапии требуют комплексного подхода. Кроме того, для успешного внедрения фармакотранскриптомных методик в клиническую практику необходимы дальнейшие крупные исследования с участием многоцентровых выборок, а также использование расширенных панелей генетических маркеров. Такие исследования помогут глубже понять механизмы, лежащие в основе стероидной зависимости и рецидивов, и создать более точные инструменты для прогнозирования клинических исходов.

Заключение

Полученные нами данные опровергли значение гена *MDR1* в определении фармакокинетики и исходов терапии микофеноловой кислотой у детей с нефротическим синдромом, одновременно выявив, что повышенная экспрессия генов *UGT1A7*, *UGT1A9* и *UGT2B7* ассоциируется с рецидивирующим течением

заболевания. Это свидетельствует о важности рассмотрения указанных генов как потенциальных маркеров повышенного риска рецидивов и открывает перспективы применения транскриптомного подхода для выявления пациентов, нуждающихся в осторожном подборе фармакотерапии. Однако мы также отмечаем, что изменения в экспрессии метаболических ферментов представляют собой важный, но не единственный фактор низкой эффективности терапии. На основе этих данных в будущем станут возможным разрабатывать стратегии мониторинга, направленные на индивидуализацию лечения и повышение его эффективности. Будущие исследования должны быть ориентированы на создание комплексных моделей, объединяющих данные о генетике, транскриптомике, фармакокинетике и клинических исходах. Это позволит значительно улучшить точность прогнозирования реакции на лечение и создать более эффективные и безопасные терапевтические подходы для пациентов с нефротическим синдромом в педиатрической практике. Таким образом, интеграция фармакотранскриптомики в клиническую практику представляет собой маленький, но важный шаг на пути к персонализированной медицине и повышению качества медицинской помощи в педиатрической нефрологии.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Pal A., Kaskel F. History of Nephrotic Syndrome and Evolution of its Treatment. *Front Pediatr* 2016; 4: 56. DOI: 10.3389/fped.2016.00056
2. Cameron J.S., Hicks J. The origins and development of the concept of a “nephrotic syndrome”. *Am J Nephrol* 2002; 22(2–3): 240–247. DOI: 10.1159/000063768
3. Hahn D., Samuel S.M., Willis N.S., Craig J.C., Hobson E.M. Corticosteroid therapy for nephrotic syndrome in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2020; 2020(8): CD001533. DOI: 10.1002/14651858.CD001533.pub6
4. Морозов С.Л., Курсова Т.С., Петросян Э.К., Пирозиева О.Р., Длин В.В. Микофенолата мофетил в терапии первичного нефротического синдрома у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2023; 68(2): 22–28. [Morozov S.L., Kursova T.S., Petrosyan E.K., Piruzieva O.R., Dlin V.V. Mycophenolate mofetil in the treatment of primary nephrotic syndrome in children. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* 2023; 68(2): 22–28. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027–4065–2023–68–2–22–28
5. Banaszak B., Banaszak P. The increasing incidence of initial steroid resistance in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2012; 27(6): 927–932. DOI: 10.1007/s00467–011–2083–7
6. Морозов С.Л., Длин В.В., Садыков А.Р., Воронкова А.С., Сухоруков В.С. Механизмы резистентности к иммуносупрессивной терапии у пациентов с нефротическим синдромом. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2017; 62(4): 19–24. [Morozov S.L., Dlin V.V., Sadykov A.R., Voronkova A.S., Sukhorukov V.S. Mechanisms of resistance to immunosuppressive therapy in patients with nephrotic syndrome. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* 2017; 62(4): 19–24. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027–4065–2017–62–4–19–24
7. Filler G., Alvarez-Elias A.C., McIntyre C., Medeiros M. The compelling case for therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil therapy. *Pediatr Nephrol* 2017; 32(1): 21–29. DOI: 10.1007/s00467–016–3352–2
8. Lamba V., Sangkuhl K., Sanghavi K., Fish A., Altman R.B., Klein T.E. PharmGKB summary: mycophenolic acid pathway. *Pharmacogenet Genomics* 2014; 24(1): 73–79. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000010
9. McMurray R.W., Harisdangkul V. Mycophenolate mofetil: selective T cell inhibition. *Am J Med Sci* 2002; 323(4): 194–196. DOI: 10.1097/00000441–200204000–00005
10. Hedstrom L. IMP dehydrogenase: structure, mechanism, and inhibition. *Chem Rev* 2009; 109(7): 2903–2928. DOI: 10.1021/cr900021w
11. Jonsson C.A., Carlsten H. Mycophenolic acid inhibits inosine 5'-monophosphate dehydrogenase and suppresses immunoglobulin and cytokine production of B cells. *Int Immunopharmacol* 2003; 3(1): 31–37. DOI: 10.1016/s1567–5769(02)00210–2
12. Betonico G.N., Abudd-Filho M., Goloni-Bertollo E.M., Pavarino-Bertelli E. Pharmacogenetics of mycophenolate mofetil: a promising different approach to tailoring immunosuppression? *J Nephrol* 2008; 21(4): 503–509
13. Michelon H., König J., Durrbach A., Quteineh L., Verstuyft C., Furlan V. et al. SLC01B1 genetic polymorphism influences mycophenolic acid tolerance in renal transplant recipients. *Pharmacogenomics* 2010; 11(12): 1703–1713. DOI: 10.2217/pgs.10.132
14. Kiberd B.A., Lawen J., Fraser A.D., Keough-Ryan T., Belitsky P. Early adequate mycophenolic acid exposure is associated with less rejection in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4(7): 1079–1083. DOI: 10.1111/j.1600–6143.2004.00455.x

15. Na Takuathung M., Sakuludomkan W., Koonrunsesomboon N. The Impact of Genetic Polymorphisms on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mycophenolic Acid: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Pharmacokinet* 2021; 60(10): 1291–1302. DOI: 10.1007/s40262-021-01037-7
16. Meng H.Y., Luo Z.H., Hu B., Jin W.L., Yan C.K., Li Z.B. et al. SNPs affecting the clinical outcomes of regularly used immunosuppressants. *Pharmacogenomics* 2018; 19(5): 495–511. DOI: 10.2217/pgs-2017-0182
17. Joy M.S., Boyette T., Hu Y., Wang J., La M. Effects of uridine diphosphate glucuronosyltransferase 2B7 and 1A7 pharmacogenomics and patient clinical parameters on steady-state mycophenolic acid pharmacokinetics in glomerulonephritis. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66(11): 1119–30. DOI: 10.1007/s00228-010-0846-x
18. Морозов С.Л., Пахомова В.П., Войнова В.Ю. Профиль экспрессии генов, ассоциированных со стероидной зависимостью, у детей с идиопатическим нефротическим синдромом. *Практическая медицина* 2024; 22(3): 57–62. [Morozov S.L., Pakhomova V.P., Voinova V.Yu. Expression profile of genes associated with steroid dependence in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Prakticheskaya meditsina* 2024; 22(3): 57–62. (in Russ.)] DOI: 10.32000/2072-1757-2024-3-57-62
19. Bergan S., Brunet M., Hesselink D.A., Johnson-Davis K.L. Personalized Therapy for Mycophenolate: Consensus Report by the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology. *Ther Drug Monit* 2021; 43(2): 150–200. DOI: 10.1097/FTD.0000000000000871
20. Wang J., Figurski M., Shaw L.M., Burckart G.J. The impact of P-glycoprotein and Mrp2 on mycophenolic acid levels in mice. *Transpl Immunol* 2008; 19(3–4): 192–196. DOI: 10.1016/j.trim.2008.05.009
21. Rosso Felipe C., de Sandes T.V., Sampaio E.L., Park S.I., Silva H.T., Jr, Medina Pestana J.O. Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. *Transplant Proc* 2009; 41(5): 1441–1455. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.03.024
22. Yap D.Y.H., Tam C.H., Yung S., Wong S., Tang C.S.O., Mok T.M.Y. et al. Pharmacokinetics and pharmacogenomics of mycophenolic acid and its clinical correlations in maintenance immunosuppression for lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2020; 35(5): 810–818. DOI: 10.1093/ndt/gfy284
23. Bernard O., Guillemette C. The main role of UGT1A9 in the hepatic metabolism of mycophenolic acid and the effects of naturally occurring variants. *Drug Metab Dispos* 2004; 32(8): 775–778. DOI: 10.1124/dmd.32.8.775
24. Rong Y., Jun H., Kiang T.K.L. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid in paediatric patients. *Br J Clin Pharmacol* 2021; 87(4): 1730–1757. DOI: 10.1111/bcp.14590
25. Djebli N., Picard N., Rérolle J.P., Le Meur Y., Marquet P. Influence of the UGT2B7 promoter region and exon 2 polymorphisms and comedications on Acyl-MPAG production in vitro and in adult renal transplant patients. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17(5): 321–330. DOI: 10.1097/FPC.0b013e32801430f8

Поступила: 03.09.24

Received on: 2024.09.03

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.