

## Использование активных методов детоксикации при замедленной элиминации метотрексата после высокодозной инфузии у ребенка с остеогенной саркомой: клиническое наблюдение

С.А. Кулева, С.В. Иванова, А.В. Новик, З.С. Котова, Н.Д. Фасеева, Д.А. Звягинцева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

Контактные данные: Светлана Александровна Кулева [Kulevadoc@yandex.ru](mailto:Kulevadoc@yandex.ru)

В статье представлено описание клинического случая замедленной элиминации метотрексата (МТХ) после его высокодозной инфузии у пациента 12 лет с морфологически верифицированной остеогенной саркомой проксимального метадиафиза левой большеберцовой кости, получавшего специфическую лекарственную терапию в клинике ФГБУ «НИИ онкологии Н.Н. Петрова» по программе EURAMOS. Общее время выведения МТХ у больного было увеличено до 144 ч, сопровождалось почечной, печеночной и гематологической токсичностью II–IV степени. Вышеперечисленные состояния были купированы проведением заместительной, инфузионной и симптоматической терапии. Больной был выписан в удовлетворительном состоянии на 12-е сутки после инфузии МТХ.

Как правило, пролонгированное выведение МТХ связано с нарушением функции ферментов, участвующих во внутриклеточном метаболизме цитостатика. Рассмотрены сведения о фармакокинетике и фармакодинамике препарата, которые в немалой степени помогают объяснить причины нарушения выведения МТХ из сыворотки крови. Уже известны гены, мутации в которых влияют на функцию ферментов и метаболизм МТХ, замедляя элиминацию последнего и увеличивая его токсичность.

В статье описана методика применения высоких доз антагониста антифолатов лейковорина (кальция фолината) и интенсификации эфферентной терапии с применением процедур плазмообмена. Предложен подробный алгоритм лечения различных осложнений, связанных с замедленным выведением МТХ из сыворотки крови.

**Ключевые слова:** дети, метотрексат, замедленная элиминация, лейковорин, плазмообмен, остеогенная саркома

DOI: 10.17650/2311-1267-2017-4-3-58-63

### Use of active detoxification methods with delayed elimination of methotrexate after high-dose infusion in a child with osteogenic sarcoma: clinical observation

S.A. Kuleva, S.V. Ivanova, A.V. Novik, Z.S. Kotova, N.D. Faseeva, D.A. Zvyagintseva

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochny, Saint Petersburg, 197758, Russia

This article represents clinical case presentation of delayed elimination of methotrexate (MTX) after high dose infusion at a patient of 12 years old with morphologically approved osteosarcoma of proximal metadiaphysis of left tibia. This boy received specific drug therapy in clinic of N.N. Petrov National Research Center of Oncology by EURAMOS program. Common time of excretion was increased to 144 hours and accompanied by kidney, liver and hematological toxicity of 2–4 gr. Abovementioned condition was eliminated by substitutive, infusion and symptomatic therapy. Patient was discharged in satisfactory condition on 12 day after MTX infusion.

As a rule, prolonged excretion of MTX is connected with dysfunction of enzymes participating in intracellular metabolism of cytostatic. Data on pharmacokinetics and pharmacodynamics of drug which to a large extent allows to explain disturbance of excretion of MTX from blood serum discussed. Genes with mutations influencing on enzymes function and MTX metabolism, which are decreasing elimination of abovementioned drug and increasing toxicity are already known.

Article represents method of application of high doses of antagonist of leucovorin antifolates (calcium folinate) and intensification of efferent therapy with plasma exchange procedures. Detailed algorithm of treatment of different complications associated with delayed excretion of MTX from blood serum proposed.

**Key words:** children, methotrexate, delayed elimination, leucovorin, plasma exchange, osteogenic sarcoma

Метотрексат (methotrexate, МТХ) – это препарат с антифолатной активностью, нарушающий метаболизм фолиевой кислоты посредством конкурентного ингибирования дигидрофолатредуктазы. Спектр опухолей, в режимах терапии которых используются различные дозы МТХ, велик. К ним, помимо гемобластозов и лимфом, относятся такие солидные новообразования, как хорионкарциномы, опухоли головного мозга, остеогенная саркома, хондросаркома [1]. При последних используется интенсификация режимов полихимиотерапии с использованием сверхвысоких доз МТХ [2, 3].

В литературе часто рассматриваются вопросы о механизмах противоопухолевого действия МТХ и его метаболитов и путях преодоления резистентности к ним [4]. Сведения же о нарушении элиминации МТХ из плазмы крови в доступных русскоязычных публикациях отсутствуют. В работе К.М. Lee et al. (2011) описаны 2 случая задержанной экскреции МТХ у детей с остеогенной саркомой [5]. Факторы, влияющие на замедление выведения МТХ и его метаболитов, не были идентифицированы. В некоторых источниках обсуждается влияние возраста, различных лекарственных средств, степени гидратации организма на задержку элиминации препарата [6–8].

Нами представлен случай замедленного выведения МТХ после его высокодозной инфузии у пациента с остеогенной саркомой.

#### Клинический пример

*У пациента 12 лет морфологически верифицирована остеогенная саркома проксимального метадиафиза левой большеберцовой кости.*

**Анамнез жизни.** Ребенок от первой беременности, первых срочных родов. Масса тела при рождении 3500 г, рост 52 см, оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Из родильного дома выписан на 4-е сутки. Эпидемиологический анамнез не отягощен. Аллергических реакций не было.

**Анамнез болезни.** После травмы левой голени появились локальный отек и болезненность. При обследовании по месту жительства в июне 2016 г. по данным компьютерной томографии (КТ) выявлена литическая деструкция проксимального метадиафиза левой большеберцовой кости. Морфологически верифицирована остеогенная саркома. С 19 июля по 24 сентября 2016 г. были проведены 3 курса полихимиотерапии в неoadъювантном режиме препаратами доксорубицин (суммарная доза – 360 мг) и цисплатин (суммарная доза – 390 мг). В НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова пациент поступил для определения дальнейшей тактики лечения.

При поступлении в отделение 25 октября 2016 г. визуализировалась асимметрия коленных суставов за счет новообразования проксимального метадиафиза левой большеберцовой кости, размером около 7 × 8 см.

*Увеличение регионарных лимфатических узлов отсутствовало. При КТ-исследовании проксимальных отделов голени определялась смешанного характера (с преобладанием склероза) деструкция в проксимальном метадиафизе левой большеберцовой кости (от ростковой зоны на протяжении 12,5 см) с разрушением и разволокнением кортикального слоя, некоторый регресс процесса по сравнению с результатами предыдущего исследования. Углубленное обследование (КТ органов грудной клетки и брюшной полости, сканирование костей скелета с технецием) данных за наличие отдаленных метастазов опухоли не выявило. Уровень креатинина в сыворотке крови и его клиренс были в пределах референтных значений.*

*Продолжена специфическая лекарственная терапия по программе EURAMOS. Цикл состоял из высокодозного МТХ (12 г/м<sup>2</sup>), расчетная доза составила 16,8 г. Накануне и во время введения МТХ проводилась инфузионная терапия глюкозо-солевыми растворами, а также ощелачивание организма с использованием 5 % раствора гидрокарбоната натрия. Инфузия препарата согласно протоколу продолжалась 4 ч. Водный баланс был адекватным, почасовой диурез составлял 1,8–2,0 мл/кг/ч без диуретиков. По окончании введения МТХ у больного отмечено появление рвоты, жидкого стула, в биохимическом анализе крови – гепатотоксичность IV степени (уровень аланинаминотрансферазы – 1774,3 Ед/л, аспаратаминотрансферазы – 3197,5 Ед/л, общий билирубин – 26,1 мкмоль/л), нефротоксичность II степени (креатинин – 206 мкмоль/л). При исследовании в контрольной точке через 24 ч зафиксирована высокая концентрация МТХ в сыворотке крови (868,32 моль/л), в связи с чем проведена коррекция режима введения лейковорина (лейковорин начат через 24 ч от начала инфузии МТХ в дозе 100 мг/м<sup>2</sup> на введение каждые 6 ч). Для расчета дозы лейковорина использовалась таблица [9, 10].*

*Инфузионная терапия также была интенсифицирована (проводился форсированный алкалический диурез – 5000 мл/м<sup>2</sup>). В последующие дни элиминация МТХ оставалась замедленной (рис. 1), неоднократно корректировался режим введения лейковорина (дозы доходили до 1000 мг/м<sup>2</sup> каждые 3 ч).*

*Клиренс МТХ на 2-е сутки был снижен и составил всего 26,4 моль/мин/м<sup>2</sup>. Фармакокинетический параметр площади под кривой концентрация–время, напротив, был высоким – 15 552 моль/ч.*

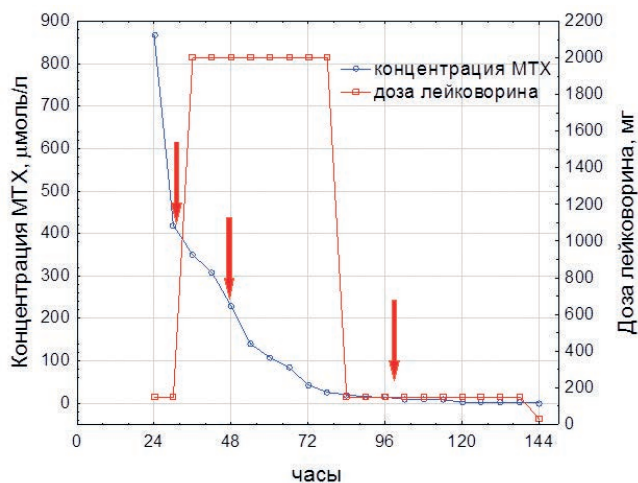
*Эфферентная терапия была дополнена экстракорпоральным методом детоксикации – плазмообменом. Величина планируемого плазмообмена рассчитывалась на основании объема циркулирующей плазмы пациента по формуле:*

$$\text{Объем циркулирующей плазмы} = (0,065 \times \text{масса тела (кг)}) \times (1 - \text{гематокрит (об. \%)}).$$

Доза лейковорина в зависимости от концентрации сывороточного МТХ [10]  
The dose of leucovorin depending on the concentration of serum MTX [10]

Время после начала инфузии МТХ, ч	Концентрация сывороточного МТХ (μмоль/л)					
	< 0,2	0,2–3	4–20	20–100	101–150	≥ 151
24	—	—	—	—	—	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч
30	—	—	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
36	—	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч
42	—	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч
48	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
54	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
60	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
66	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
72	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
78	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
84	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
90	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
96	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
102	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
108	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
114	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч
120*	—	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 6 ч	15 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	100 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч	1000 мг/м <sup>2</sup> каждые 3 ч

**Примечание.** \* — после 120 ч наблюдения при замедленной элиминации МТХ дозы кальция фолината соответствуют табличным для 120 ч, препарат вводится до тех пор, пока концентрация МТХ в сыворотке не составит < 0,2 μмоль/л.



**Рис. 1.** Концентрация MTX в сыворотке крови и доза лейковорина, вводимая пациенту (↓ – процедура плазмообмена)  
**Fig. 1.** The concentration of MTX in the blood serum and the dose of leucovorin administered to the patient (↓ – plasma exchange procedure)

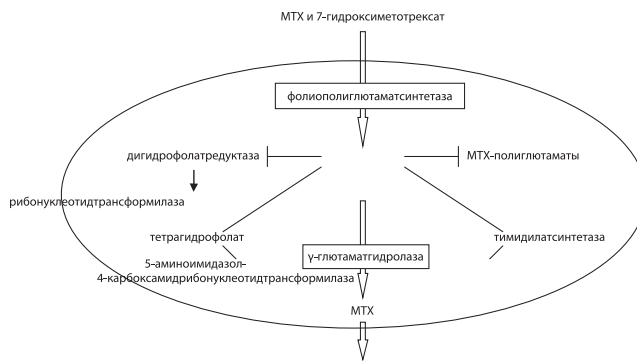
Величина перфузированной крови составляла 9800 мл. Сепарировано 2100 мл плазмы (83 % объема циркулирующей плазмы). Всего было проведено 3 сеанса плазмообмена с замещением фильтрата свежесзамороженной донорской плазмой.

Мониторинг сывороточного MTX проводился до его значений менее 0,5 μмоль/л. При достижении данного уровня лейковорин вводился еще 11 раз каждые 6 ч в дозе 15 мг/м<sup>2</sup>.

Общее время выведения MTX было увеличено до 144 ч, т. е. в 2 раза дольше нормального выведения. Замедленная элиминация MTX сопровождалась гепатотоксичностью IV степени, нефротоксичностью II степени, миелосупрессией (анемия IV степени, тромбоцитопения II степени, лейко-нейтропенией I–II степени), мукозитом I–II степени. Вышеперечисленные состояния были купированы проведением заместительной, инфузионной и симптоматической терапии. Больной был выписан в удовлетворительном состоянии на 12-е сутки после инфузии MTX.

### Обсуждение

Чтобы понять механизмы нарушения выведения MTX из сыворотки крови необходимо рассмотреть его фармакокинетику и фармакодинамику. MTX гидроксيليруется в печени до метаболита 7-гидроксиметотрексата [11]. Препарат и его метаболит попадают в клетку несколькими путями: через переносчики восстановленных фолатов (преимущественный путь), с помощью белка, связывающего фолаты, и пассивной диффузией при высоких концентрациях в сыворотке через цитоплазматическую мембрану (рис. 2).



**Рис. 2.** Внутриклеточное действие MTX и 7-гидроксиметотрексата и их метаболизм  
**Fig. 2.** Intracellular action of MTX and 7-hydroxymethotrexate and their metabolism

Внутриклеточный MTX метаболизируется в полиглутаматы с помощью фермента фолиополиглутаматсинтетазы. Полиглутамация необходима для реализации противоопухолевого эффекта MTX, так как она позволяет аккумулировать полиглутаминовые формы препарата вследствие снижения выведения их из клетки. Кроме того, полиглутаматы обладают большим ингибирующим механизмом на ферменты-мишени, особенно в клетках с высокой пролиферативной активностью, т. е. злокачественных популяциях. Антагонистом фолиополиглутаматсинтетазы является лизосомальная γ-глутаматгидролаза, с помощью которой образуются неполиглутаминовые формы, быстро выводящиеся из клетки. Основным объектом ингибиторного влияния MTX служит фермент дигидрофолатредуктаза, продуктами которой являются синтезируемые тетрагидрофолаты, участвующие в репарации ДНК.

На рис. 3 представлены химические формулы тетрагидрофолатов и полиглутаматных форм MTX, которые объясняют причины конкурирующего действия полиглутаматов MTX с тетрагидрофолатами. Разница присутствует лишь в структуре остатка птеронидной кислоты. Ингибиции полиглутаминовыми формами подвергаются и рибонуклеотидтрансформилаза, 5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибонуклеотидтрансформилаза и тимидилатсинтетаза, также являющиеся ферментами синтеза предшественников ДНК [12].

Период полувыведения MTX составляет 6–7 ч с девиацией от 3 до 17 ч. Значительно удлиняется период элиминации у пациентов с полисерозитами. Выведение препарата осуществляется через почки путем клубочковой фильтрации и секреции в проксимальных канальцах. Около 5–20 % MTX и 1–5 % 7-гидроксиметотрексата элиминируется через желчевыводящие пути [13].



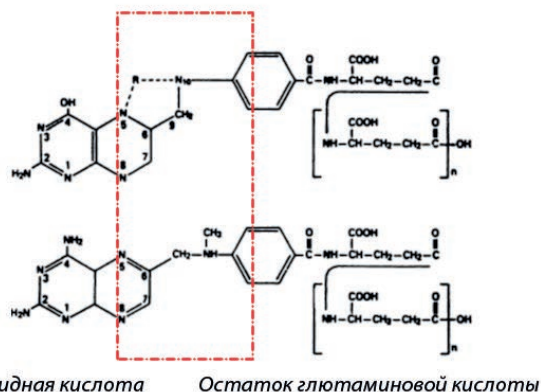


Рис. 3. Химические формулы тетрагидрофолатов (вверху) и полиглутаматных форм МТХ (внизу)

Fig. 3. The chemical formulas of tetrahydrofolates (top) and polyglutamate forms of MTX (bottom)

Уже известны гены, мутации в которых влияют на функцию ферментов и метаболизм МТХ, замедляя элиминацию последнего и увеличивая его токсичность. Например, фермент метилентетрагидрофолатредуктаза, играющий ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты, картируется геном *MTHFR* [14]. Гомозиготная форма *677T/T* встречается в популяции у 10–16 % людей и нередко сопровождается высоким риском тяжелых осложнений после использования высокодозного МТХ. Нарушение функции  $\gamma$ -глутамилгидролазы, участвующей во внутриклеточном метаболизме МТХ, связано, как правило, с кодирующим геном *GGH*. Распространенность мутации аллеля достигает до 30 %. Полиморфизм гена *-401C/T* влияет на полиглутамацию МТХ, тем самым снижая аккумуляцию препарата в клетке и увеличивая концентрацию его неполиглутаминовых форм в сыворотке крови, усугубляя токсичность [15].

Среди осложнений лечения высокодозным МТХ выделяют нефро-, гепато-, миело- и гастроинтестинальную токсичность. Применение МТХ приводит к смерти в 6 % случаев, при этом 80 % из них обусловлены тяжелой миелосупрессией и, как следствие, сепсисом и геморрагическим синдромом, оставшиеся 20 % – почечной недостаточностью [16, 17]. Тяжесть осложнений связана с возрастом больного: чем моложе пациент, тем переносимее токсичность, в то время как у пациентов старшего возраста осложнения протекают в тяжелой степени и нередко сопряжены со смертельным исходом [18].

Инфузия высоких доз МТХ стала возможной после внедрения в онкологическую практику антагониста антифолатов лейковорина (кальция фолината). В большинство лечебных программ с использова-

нием высоких доз МТХ включен кальция фолинат как препарат, снижающий токсичность последнего. В механизме превращения лейковорина в тетрагидрофолаты дигидрофолатредуктаза, инактивированная МТХ и его метаболитом, участия не принимает, поэтому процессы репарации и репликации ДНК и РНК с применением кальция фолината достаточно быстро восстанавливаются [19].

В зарубежной литературе все большее внимание уделяется представителю класса бактериальных энзимов, в частности карбоксипептидазе G2, инактивирующей МТХ в сыворотке крови и используемой, как правило, при развитии МТХ-индуцированной почечной недостаточности [15, 18]. В нашей стране в государственном реестре лекарственных средств препарат не зарегистрирован.

Мероприятия при нарушении элиминации МТХ и его метаболитов должны быть направлены на профилактику и купирование возможных осложнений. В алгоритме лечения пациентов, по нашему мнению, необходимо учитывать следующие моменты.

1. Этиотропная терапия фебрильной нейтропении с учетом локальных эпидемиологических данных и немедленной коррекцией после получения результатов бактериологического исследования биологического материала.

2. Терапия спасения (rescue) аналогом фолиевой кислоты кальция фолинатом (лейковорин). Расчетные дозы лейковорина, используемые при 24-часовой инфузии высокодозного МТХ в дозах 1–12 г/м<sup>2</sup>, были представлены в таблице [10].

3. Подключение всех методов детоксикации (эфферентных, афферентных, а также методов, моделирующих механизмы разведения и иммобилизации токсических субстанций).

Инфузионную терапию следует проводить в целях дезинтоксикации, соблюдая следующие правила:

- используются глюкозо-солевые растворы в режиме гипергидратации (3–5 л/м<sup>2</sup>) в соотношении 1:1;
- в целях алкализации обязательно проведение инфузии 5 % раствора гидрокарбоната натрия в дозе 2 мл/кг. Мониторинг кислотно-основного состояния и pH мочи дает наглядное представление о кислотно-щелочном балансе организма;
- при нарушениях волемического статуса в инфузию включаются коллоидные растворы, в том числе 10 % альбумин в дозе 10 мг/м<sup>2</sup>;
- в целях повышения экскреции проводится форсирование диуреза петлевыми диуретиками в дозе 0,1–0,2 мг/кг (до 1–2 мг/кг), возможно одновременное введение титрованного допамина в дозе 1–4,5 мкг/кг/мин. Среди препаратов, улучшающих почечный кровоток, известны 2,4 % раствор эуфиллина 1,0 мл/год жизни в сутки и 2 % раствор трентала 1–2 мг/кг или 0,5 % раствор курантила 3–5 мг/кг.