

С.А. Кулева

ЗАМЕДЛЕННАЯ ЭЛИМИНАЦИЯ МЕТОТРЕКСАТА ПОСЛЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ИНФУЗИИ

НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России, Санкт-Петербург

Метотрексат (МТХ—methotrexate)—препарат с антифолатной активностью, нарушающий метаболизм фолиевой кислоты посредством конкурентного ингибирования дигидрофолатредуктазы и других ферментов. В стандартных дозах это лекарство широко используется в лечении как онкологических, так и неонкологических заболеваний (псориаза, ревматоидного артрита, системной красной волчанки, болезни Крона). Спектр опухолей, в режимах терапии которых используются различные дозы метотрексата, велик, и к ним на сегодняшний день, помимо гемобластозов, относятся такие солидные новообразования, как остеогенная саркома и опухоли головного мозга [5]. При последних используется дозная интенсификация режимов полихимиотерапии метотрексатом [6, 9].

В литературе часто рассматриваются вопросы о механизмах противоопухолевого действия метотрексата и его метаболитов и путях преодоления резистентности к ним [1]. Сведения же о нарушении элиминации метотрексата из плазмы крови в доступной русскоязычной литературе отсутствуют. В работе К.М. Lee и соавт. [10] описаны 2 случая задержанной экскреции метотрексата у детей с остеогенной саркомой. Факторы, влияющие на замедление выведения метотрексата и его метаболитов, не были идентифицированы. В некоторых источниках обсуждается влияние возраста, других нефротоксичных препаратов, степени гидратации организма на задержку элиминации препарата [3,7,16].

Чтобы понять механизмы нарушения выведения препарата необходимо рассмотреть его фармакокинетику и фармакодинамику. Метотрексат гидроксилируется в печени до метаболита 7-гидроксиметотрексата [4]. 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. 1).

Внутриклеточный метотрексат метаболизируется в полиглутаматы (ПГ) с помощью фермента фолиополиглутаматсинтетазы. Полиглю-

тамация необходима для реализации противоопухолевого эффекта метотрексата, так как 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 метотрексата служит фермент дигидрофолатредуктаза, продуктами которой являются синтезируемые тетрагидрофолаты, участвующие в репарации ДНК.

На рис. 2 представлена химическая формула тетрагидрофолатов и полиглутаматных форм метотрексата, которые объясняют причины конкурентного действия полиглутаматов метотрексата с тетрагидрофолатами. Разница присутствует лишь в структуре остатка птеронидной кислоты. Ингибиции полиглутаминовыми формами подвергаются и рибонуклеотидтрансформилаза, 5-аминоимидазол-4-карбоксимидрибонуклеотидтрансформилаза и тимидилатсинтетаза, также являющиеся ферментами синтеза предшественников ДНК [17].

Период полувыведения метотрексата составляет 6-7 час. с девиацией от 3 до 17 час. Значительно удлиняется период выведения у пациентов с полисерозитами (плевритом, асцитом). Выведение препарата осуществляется через почки путем клубочковой фильтрации и секреции в проксимальных канальцах [15]. Около 5-20% метотрексата и 1-5% 7-гидроксиметотрексата элиминируется через желчевыводящие пути [8].

Среди осложнений лечения высокодозным метотрексатом выделяют нефро-, гепато-, гастроинтестино- и миелотоксичность. Применение МТХ приводит к смерти в 6% случаев, при этом 80% из них обусловлены тяжелой миелосупрессией и как следствием сепсисом и геморрагическим синдромом, оставшиеся 20% — почечной недостаточностью [11,15]. Тяжесть ослож-

MTX и 7-гидрокси-MTX

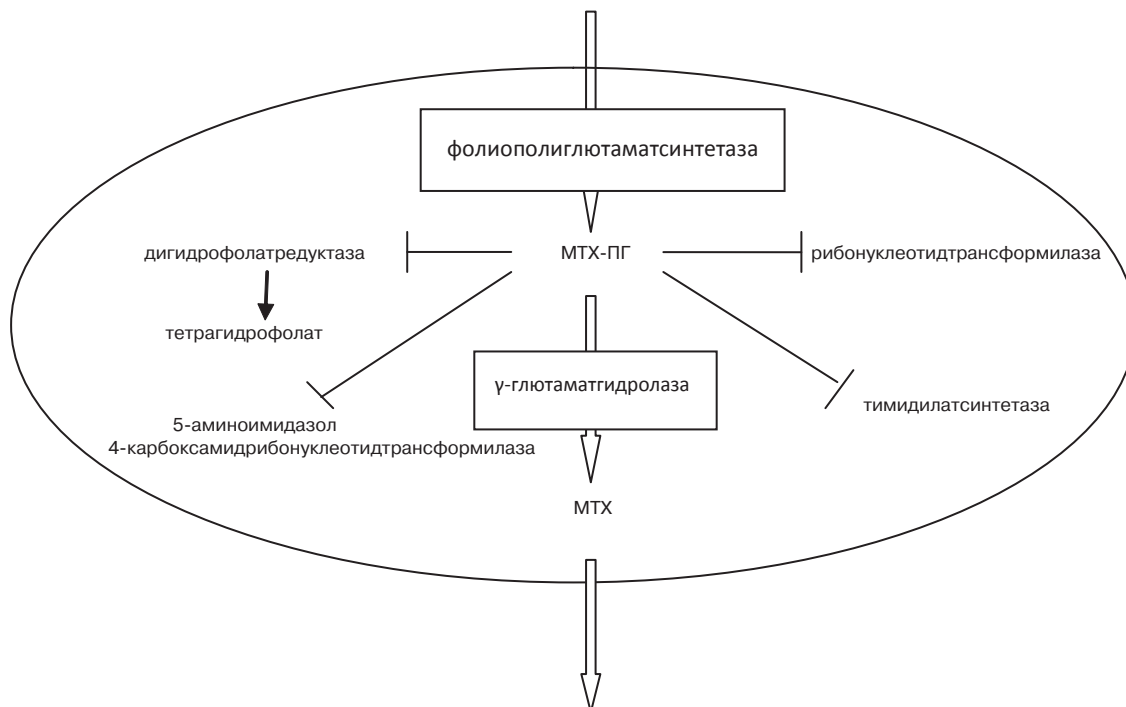


Рис. 1. Внутриклеточное действие метотрексата и 7-гидроксиметотрексата и их метаболизм

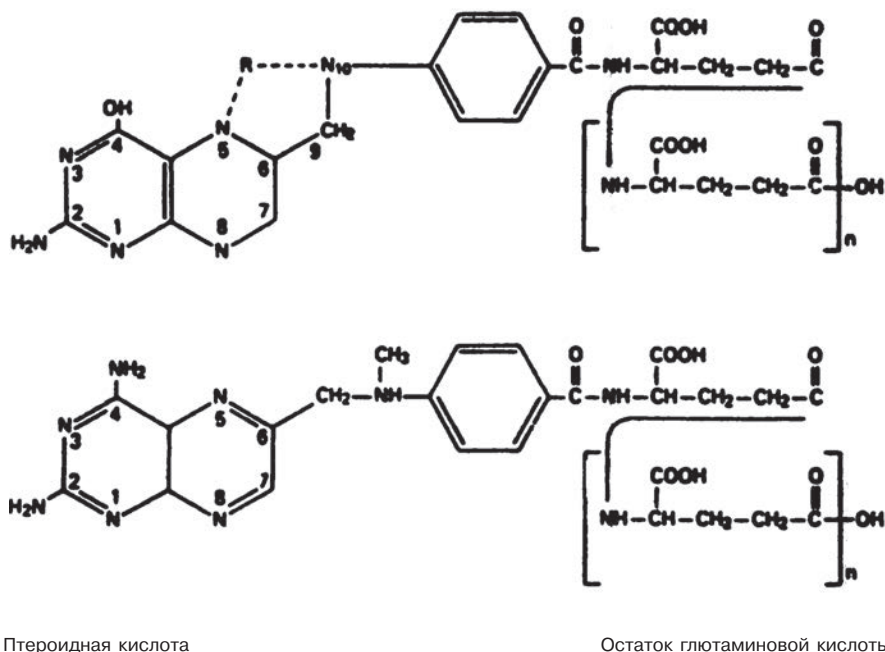


Рис. 2. Химические формулы тетрагидрофолатов (вверху) и полиглютаматных форм метотрексата (внизу)

нений связана с возрастом больного: чем моложе пациент, тем переносимее токсичность, в то время как у больных старшего возраста осложнения протекают в тяжелой степени и нередко сопряжены со смертельным исходом [13].

Инфузия высоких доз метотрексата стала возможной после внедрения в онкологическую

практику антагониста антифолатов лейковорина (кальция фолината). В большинство лечебных программ с использованием высоких доз метотрексата включен кальция фолинат как препарат, снижающий токсичность последнего. В механизме превращения лейковорина в тетрагидрофолаты дигидрофолатредуктаза, инактивиро-

ванная метотрексатом и его метаболитом, участия не принимает, поэтому процессы репарации и репликации ДНК и РНК с применением кальция фолината достаточно быстро восстанавливаются [12].

Уже известны гены, мутации в которых влияют на функцию ферментов и метаболизм метотрексата, замедляя элиминацию последнего и увеличивая его токсичность. Например, фермент метилентетрагидрофолатредуктаза, играющая ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты, картируется геном MTHFR [2]. Гомозиготная форма 677T/T встречается в популяции у 10-16% людей и нередко сопровождается высоким риском тяжелых осложнений после использования высокодозного метотрексата. Нарушение функции γ -глутамилгидролазы, участвующей во внутриклеточном метаболизме метотрексата, связано, как правило, с кодирующим геном GGH. Распространенность мутации аллеля доходит 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 [14].

Молекулярная эпидемиология—быстро развивающаяся отрасль науки, позволяющая проводить анализ генетического полиморфизма, и в целом генетическую паспортизацию населения. Определение полиморфного профиля ферментов осуществляется с помощью биологических микрочипов, используя которые можно линейно узнавать стереокомплемментарные основания нуклеиновых кислот. Применяя этот метод, удастся предсказывать состояния, сопровождающиеся замедленной элиминацией МТХ после инфузии его высоких доз.

Нами представлен случай замедленной экскреции метотрексата из сыворотки крови после его высокодозной инфузии, что привело к тяжелым осложнениям.

Клиническое наблюдение

Больной Ш., 6 мес., получал лечение по поводу морфологически верифицированной примитивной нейроэктодермальной опухоли хиазмально-селлярной области головного мозга.

Анамнез жизни. Ребенок от 2 беременности, протекавшей с угрозой прерывания на 6-7 нед., 1 родов на 38 нед. Кесарево сечение, безводный период 14 ч. Закричал после санации верхних дыхательных путей. Масса тела при рождении 3000 г, рост 50 см. Из родильного дома выписан на 10-е сутки. Эпидемиологический анамнез не отягощен. Аллергических реакций не было.

Анамнез болезни. После перенесенного ОРЗ мать отметила ухудшение аппетита, левосторонний птоз. По рекомендации невропатолога и окулиста выполнено МРТ головного мозга, при которой выявлено объемное образование хиазмально-селлярной области с супра-параселлярным

ростом, размерами 17x21x25 мм, накапливающее контрастное вещество.

Было выполнено микрохирургическое вмешательство с использованием операционного микроскопа, интраоперационной навигации и нейрофизиологического исследования при внутримозговых новообразованиях головного мозга, остеопластическая краниотомия в левой лобной области с заходом за среднюю линию, субфронтальная ревизия основания передней и средней черепной ямки, парциальное удаление опухоли. Иммуногистохимическое исследование: Chromogranin +, CD99 +, S100 +, NB слабо фокально +, Synaptophysin отдельные клетки +, NSE -, GFAP -, Ki67 экспрессируют около 45% клеток.

При поступлении в отделение состояние среднетяжелое, стабильное. Кожные покровы, видимые слизистые оболочки чистые. Над легкими ясный легочный звук. Дыхание пуррильное, проводилось во все отделы грудной клетки, хрипов не было. Тоны сердца ясные, громкие. Пульс насчитывал 130 ударов в мин. Артериальное давление составляло 70/45 мм. рт. ст. Язык влажный, чистый. Живот мягкий, доступен глубокой пальпации, не вздут, равномерно участвовал в акте дыхания. Физиологические отправления в норме. *Неврологический статус.* Ребенок в сознании, на осмотр реагировал улыбкой, гулил. Птоз левого верхнего века, экзофтальм слева. Зрачки равные, реакция на свет справа живая, слева—отсутствовала. При осмотре правого глаза—взгляд фиксировал, за предметами следил. Были ограниченными движения левого глаза вверх и в стороны. Расходящееся косоглазие за счет левого глаза. Глотание и фонация не были нарушены. Тонус мышц удовлетворительный, симметричный. Движения в конечностях в полном объеме. Глубокие сухожильные рефлексы высокие, симметричные. Брюшные рефлексы живые, симметричные. Голову держит уверенно. Опора на ноги с тенденцией на передний отдел стоп. Менингеальные симптомы отсутствуют. Большой родничок размерами 0,5x0,5 см. Окружность головы—41,5 см. Заключение нейропсихолога—коэффициент психического развития 100 баллов; невролога—поражение левого III черепно-мозгового нерва; офтальмолога—глазное дно без патологических изменений, левый глаз—поражение глазодвигательного нерва, экзофтальм; педиатра—данных за острую соматическую патологию не нет.

При МРТ головного мозга сохранялась остаточная опухоль размерами 20x25 мм, МРТ шейного, грудного и пояснично-крестцового отделов позвоночника показала диффузное накопление контраста в области оболочек спинного мозга.

Уровень креатинина в сыворотке и его клиренс в пределах референтных значений. Специфическая лекарственная терапия начата по жизненным показаниям по программе НИТ-2000 (ветка MET-НИТ 2000-BIS4 для ПНЭТ) с редукцией доз препаратов. Цикл состоял из винкристина (0,005 мг/кг) и карбоплатина (25 мг/кг) в 1-й день, вепезида (2 мг/кг) и циклофосфамида (65 мг/кг) во 2-3 дни, метотрексата (5 г/м²) в 5-й день. Расчетная доза метотрексата составила 1,8 г. Накануне, перед и во время введения МТХ проводилась инфузионная терапия глюкозо-солевыми препаратами, а также ощелачивание организма с использованием 5% раствора соды (NaHCO₃). Инфузия, согласно протоколу, продолжалась 24 час. Водный баланс адекватный, почасовой диурез—1,6-2,0 мл/кг/ч без диуретиков. При контрольной анализе через 24 ч отмечена высокая концентрация МТХ в сыворотке крови (522 моль/л), в связи с чем проведена коррекция режима введения лейковорина (лейковорин начат через 24 ч от начала инфузии МТХ в дозе 50 мг/м²) (см. рис. 3). По протоколу НИТ 2000 лечение лейковорином, независимо от концентрации МТХ в сыворотке крови, необходимо начинать через 42 ч в дозе 15 мг/м². В последующие дни сохранялось замедленным выведение

МТХ (рис. 3), неоднократно корректировался режим введения лейковорина (дозы доходили до 233 мг/м² каждые 3 ч). Доза лейковорина высчитывалась по формуле:

$$\text{Доза лейковорина (мг)} = \text{концентрация метотрексата в сыворотке крови (μмоль/л)} \times \text{массу тела (кг)}$$

Через 72 ч после введения метотрексата при подсчете дозы фолината кальция использовались номограммы, представленные в протоколе НТ 2000. Мониторинг сывороточного метотрексата 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/м².

Клиренс метотрексата на вторые сутки был снижен и составил всего 7,6 μмоль/мин/м². Фармакокинетический параметр площади под кривой концентрация-время, напротив, был высоким — 12165 μмоль × ч.

Несмотря на введение высоких доз лейковорина, у больного на 8-е сут после инфузии МТХ появились кожная токсичность (гиперемия кожи, эрозивный мукозит), гематотоксичность (панцитопения 4 ст.). Неоднократно использовалась компонентная гемотерапия. В связи с некупирующимся кровотечением из эрозий полости рта больной переведен в отделение интенсивной терапии, где проводилась массивная трансфузионно-инфузионная терапия, этиотропное (антибактериальное, антифунгальное) и симптоматическое (гемостатическое, противоязвенное, жаропонижающее, противовоспалительное, гепатопротекторное) лечение, нутриционная поддержка. Показатели волемического, водно-электролитного, кислотно-основного баланса были стабильные. Несмотря на проводимое лечение, отмечалось постепенное ухудшение состояния, нарастание признаков сердечно-дыхательной недостаточности, рвота желчью, мелена. Причиной смерти больного стала сердечно-легочная недостаточность.

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

1. Неизбежность миелосупрессии диктует необходимость назначения эмпирической этиотропной терапии, как правило, цефалоспорины 3 поколения и антифунгальными препаратами с коррекцией после получения результатов забора биологического материала.

2. Инфузионную терапию следует проводить с целью дезинтоксикации, соблюдая следующие правила:

- используются глюкозо-солевые растворы в режиме гипергидратации (3-5 л/м²) в соотношении 1 : 1;

- с целью алкализации обязательно проведение инфузии 5% раствора NaHCO₃ в дозе 2 мл/кг. Мониторинг кислотно-основного состояния и pH мочи дает наглядное представление о кислотно-щелочном балансе организма;

- при нарушениях волемического обмена в инфузии включаются коллоидные растворы, в том числе 10% альбумин в дозе 10 мг/кг;

- с целью 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 в мин. Среди препаратов, улучшающих почечный кровоток, известны 2,4% раствор эуфиллина 1,0 мл/год жизни в сут и 2% раствор трентала 1-2 мг/кг или 0,5% раствор курантила 3-5 мг/кг;

- для профилактики отека головного мозга необходима кортикостероидная терапия, дозирование которой проводится индивидуально в зависимости от локализации злокачественного процесса, схемы лечения и риска развития эрозивного и язвенного мукозита.

Симптоматическая терапия с коррекцией острой дыхательной недостаточности (поддер-

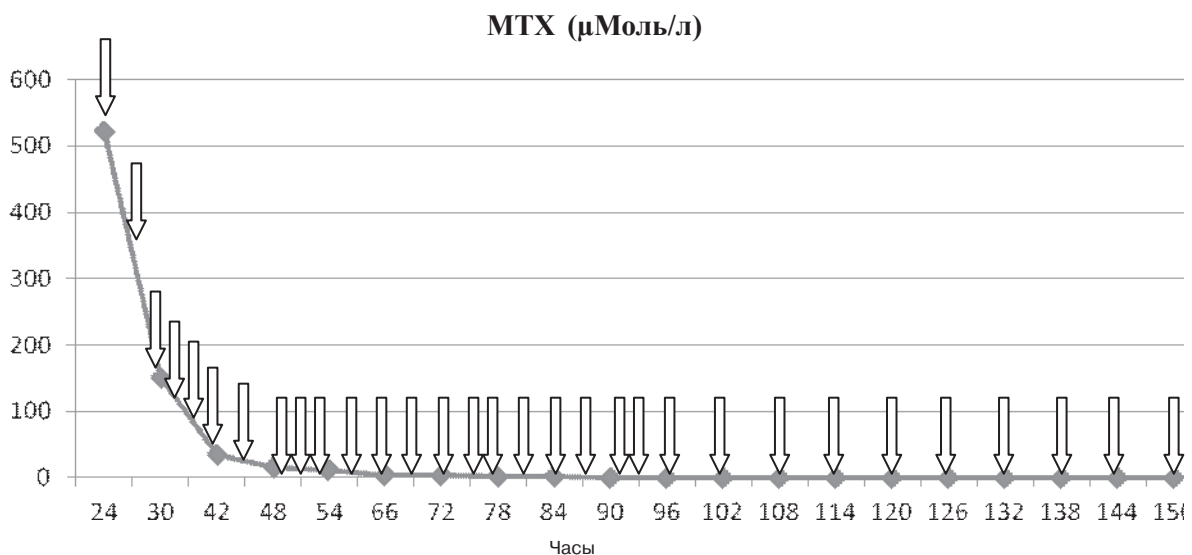


Рис. 3. Концентрация метотрексата в сыворотке больного Ш. (стрелками показано введение лейковорина)

Доза лейковорина в зависимости от концентрации сывороточного метотрексата

Часы после начала инфузии МТХ	Концентрация сывороточного метотрексата (μмоль/л)					
	< 0,2	0,2-3	4-20	20-100	101-150	≥ 151
24	-	-	-	-	-	100 мг/м2 каждые 6 ч
30	-	-	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч
36	-	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч
42	-	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч
48	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
54	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
60	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
66	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
72	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
78	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
84	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
90	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
96	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
102	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
108	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
114	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч
120*	-	15 мг/м2 каждые 6 ч	15 мг/м2 каждые 3 ч	100 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч	1000 мг/м2 каждые 3 ч

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

жание свободной проходимости дыхательных путей, оксигенотерапия увлажненным кислородом, перевод на искусственную вентиляцию легких при появлении симптомов дыхательной недостаточности III степени), при недостаточности кровообращения (сердечные гликозиды, реполяризирующая смесь) и т.д.

Расчетные дозы лейковорина представлены в таблице. Данные дозы применяются при 24-часовой инфузии высокодозного метотрексата в дозах 1-5 г/м².

Используя представленные рекомендации, несомненно, удастся снизить токсичность метотрексата и его метаболитов особенно у пациентов с их замедленной элиминацией после высокодозной инфузии препарата.

Определить ту безопасную грань между эффективностью и токсичностью метотрексата крайне сложно.

ЛИТЕРАТУРА

- Невожай Д.В., Будзынская Р., Каньская У. и др. Современные представления о механизме противоопухолевого действия метотрексата и устойчивости к нему // Тихоокеан. мед. журн. — 2006. — № 4. — С. 12-16.
- Пименова М.А., Соколов А.Н., Бирюкова Л.С. и др. Экстремально высокая концентрация метотрексата в сыворотке крови, сопровождавшаяся острой почечной недостаточностью у больного острым лимфобластным лейкозом после высокодозной консолидации // Тер. арх. — 2011. — № 7. — С. 58-61.
- Al-Turkmani M.R., Law T., Narla A., Kellogg M.D. Difficulty measuring methotrexate in a patient with high-dose methotrexate-induced nephrotoxicity // Clin. Chemistry. — 2010. — Vol. 56. — № 12. — P. 1792-1796.
- Bremnes R.M., Slordal L., Wist E. et al. Formation and elimination of 7-hydroxymethotrexate in the rat in vivo after methotrexate administration // Cancer Res. — 1989. — Vol. 49. — P. 2460-2464.
- Crews K.R., Liu T., Rodriguez-Galindo C. et al. High-dose methotrexate pharmacokinetics and outcome of children and young adults with osteosarcoma // Cancer (Philad.). — 2004. — Vol. 100. — P. 1724-1733.
- Ferreri A.J.M., Guerra E., Regazzi M. et al. Area under the curve of methotrexate and creatinine clearance are outcome-determining factors in primary CNS lymphomas // Brit. J. Cancer. — 2004. — Vol. 90. — P. 353-358.
- Ikeda H., Kihira K., Kuwata N. et al. Early recognition of patients with decreased methotrexate clearance following

- high-dose methotrexate infusion therapy // *Hiroshima J. Med. Sci.* — 1996. — Vol. 45. — № 2. — P. 57-62.
8. Joerger M., Huitema A.D.R., van den Bongard H.J.G.D. et al. Determinants of the elimination of methotrexate and 7-hydroxy-methotrexate following high-dose infusional therapy to cancer patients // *Brit. J. Clin. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 62. — P. 71-80.
9. Joerger M., Huitema A.D.R., Krähenbühl S. et al. Methotrexate area under the curve is an important outcome predictor in patients with primary CNS lymphoma: a pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis from the IELSG no. 20 trial // *Brit. J. Cancer.* — 2010. — Vol. 102. — P. 673-677.
10. Lee K.M., Lee H.W., Kim S.Y. et al. Two pediatric osteosarcoma cases with delayed methotrexate excretion: its clinical course and management // *Cancer Res. Treat.* — 2011. — Vol. 43. — P. 67-70.
11. Mashhadi M.A., Kaykhaei M.A., Sanadgol H. Low prevalence of high-dose methotrexate nephropathy in patients with malignancy // *IJKD.* — 2012. — Vol. 6. — P. 105-109.
12. Sowers R., Wenzel B.D., Richardson C. et al. Impairment of methotrexate transport is common in osteosarcoma tumor samples // *Sarcoma.* — 2011. — ID 834170.
13. Treon S.P., Chabner B.A. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy // *Clin. Chemistry.* — 1996. — Vol. 42. — P. 1322-1329.
14. Vlamming M.L.H., van Esch A., Pala Z. et al. Abcc2 (Mrp2), Abcc3 (Mrp3), and Abcg2 (Bcrp1) are the main determinants for rapid elimination of methotrexate and its toxic metabolite 7-hydroxymethotrexate in vivo // *Mol. Cancer Ther.* — 2009. — Vol. 8. — P. 3350-3359.
15. Widemann B.C., Adamson P.C. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity // *Oncologist.* — 2006. — Vol. 11. — P. 694-703.
16. Widemann B.C., Balis F.M., Kim A. et al. Glucarpidase, leucovorin, and thymidine for high-dose methotrexate-induced renal dysfunction: clinical and pharmacologic factors affecting outcome // *J. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol. 28. — P. 3979-3986.
17. Widemann B.C., Sung E., Anderson L. et al. Pharmacokinetics and metabolism of the methotrexate metabolite 2,4-diamino-N¹⁰-methylpteroic acid // *JPED.* — 2000. — Vol. 294. — P. 894-901.

Поступила в редакцию 10.10.2012 г.