

ПРОФИЛАКТИКА ТОКСИЧНОСТИ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ ВЫСОКИМИ ДОЗАМИ МЕТОТРЕКСАТА У ДЕТЕЙ

© Е.П. Евсютина¹, Ю.В. Диникина^{2,1}, М.Б. Белогурова^{2,1}, Ю.С. Александрович²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Для цитирования: Евсютина Е.П., Диникина Ю.В., Белогурова М.Б., Александрович Ю.С. Профилактика токсичности при химиотерапии высокими дозами метотрексата у детей // Педиатр. – 2019. – Т. 10. – № 2. – С. 89–98. <https://doi.org/10.17816/PED10289-98>

Поступила: 04.02.2019

Одобрена: 05.03.2019

Принята к печати: 19.04.2019

Метотрексат (МТХ) – широко используемый противоопухолевый препарат из группы антиметаболитов, антагонистов фолиевой кислоты. Эффективность применения высоких доз (более 1 г/м²) МТХ в монотерапии или в комбинации с другими химиопрепаратами доказана при лечении большого спектра онкологических заболеваний у детей, в частности, таких, как остеосаркома, опухоли центральной нервной системы, лимфомы, острый лимфобластный лейкоз. Использование высоких доз МТХ нередко сопряжено с развитием жизнеугрожающих осложнений, к которым относятся МТХ-индуцированное острое повреждение почек, нейротоксичность, миелосупрессия. Существующие в настоящее время рекомендации по терапевтическому мониторингу и сопроводительной терапии, включающие гипергидратационную инфузионную терапию, алкализацию мочи и терапию лейковорином, позволяют уменьшить токсичность МТХ, однако у ряда пациентов не всегда получается предотвратить развитие осложнений. Следует подчеркнуть малочисленность когортных исследований по выявлению факторов риска развития токсичности при использовании высоких доз МТХ у детей с различными нозологическими формами онкологических заболеваний, а также сравнению различных режимов сопроводительной, в том числе инфузионной, терапии. Изучение механизмов развития токсичности МТХ в зависимости от фоновых состояний позволит усовершенствовать рекомендации и разработать новые максимально эффективные стандарты сопроводительной терапии с учетом индивидуальных особенностей пациентов.

Ключевые слова: метотрексат; дети; онкология; инфузионная терапия; токсичность.

PREVENTION OF TOXICITY IN CHEMOTHERAPY WITH HIGH DOSES OF METHOTREXATE IN CHILDREN

© E.P. Evsiutina¹, Yu.V. Dinikina^{2,1}, M.B. Belogurova^{2,1}, Yu.S. Aleksandrovich²

¹Almazov National Medical Research Centre, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia;

²St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia

For citation: Evsiutina EP, Dinikina YuV, Belogurova MB, Aleksandrovich YuS. Prevention of toxicity in chemotherapy with high doses of methotrexate in children. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2019;10(2):89-98. <https://doi.org/10.17816/PED10289-98>

Received: 04.02.2019

Revised: 05.03.2019

Accepted: 19.04.2019

Methotrexate (MTX) is a widely used anti-tumor drug, folic acid antagonists. The effectiveness of high doses (more than 1 g/m²) of MTX in a monotherapy or in a combination with other chemotherapeutic drugs has been proven in a treatment of a large spectrum of oncological diseases in children such as osteosarcoma, tumors of the central nervous system, lymphomas, acute lymphoblastic leukemia. The use of high doses of MTX is often fraught with development of life-threatening complications such as MTX-induced acute kidney injury, neurotoxicity, myelosuppression. Currently developed recommendations for therapeutic monitoring and supportive care, including hyper-hydration, urine alkalization and leucovorin therapy, allow to reduce toxicity of MTX, but in some patients it is not always possible to prevent the development of complications. Cohort studies in order to identify risk factors for toxicity after high doses of MTX in children with different forms of cancer are limited, as well as comparing various types of supportive care regimens, including, infusion therapy. Studying of development mechanisms of MTX toxicity depending on background conditions will allow to improve existing recommendations and develop new and most effective standards of supportive therapy with respect to the individual specifics of patients.

Keywords: methotrexate; children; oncology; infusion therapy; toxicity.

ВВЕДЕНИЕ

Метотрексат (МТХ) — противоопухолевый препарат, широко используемый в детской онкологии и доказавший свою эффективность в отношении таких заболеваний, как остеосаркома, опухоли центральной нервной системы (ЦНС), лимфомы, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ). Использование МТХ в высоких дозах (ВДМТХ) (более 1 г/м²) возможно как в монотерапии, так и в комбинации с другими цитостатиками, при этом суммарные дозы и режимы введения различаются в зависимости от основного диагноза [14, 31].

Механизм действия МТХ основан на подавлении пролиферативных процессов в клетке путем ингибирования дигидрофолатредуктазы — фермента, превращающего дигидрофолат в тетрагидрофолат в процессе синтеза тимидилата и пуриновых нуклеотидов, необходимых для биосинтеза ДНК [14, 27].

Несмотря на то что на сегодня известны некоторые из факторов риска развития токсических осложнений терапии МТХ и предложены к использованию в клинической практике схемы сопроводительной терапии, зачастую приходится сталкиваться с тяжелыми жизнеугрожающими осложнениями: острой почечной недостаточностью (ОПН), поражением кожи и слизистых оболочек, тяжелой нейро- и гепатотоксичностью, миелосупрессией, гастроинтестинальными нарушениями [7, 14, 21, 31, 34].

По данным литературы, случаи развития тяжелой токсичности могут достигать 10 %, а летальность — 6 % [7, 10]. У этих пациентов 80 % летальных исходов обусловлено септическими и геморрагическими осложнениями, связанными с тяжелой миелосупрессией, а 20 % — острой почечной недостаточностью [28]. Частота развития токсических осложнений варьирует. Так, острая почечная недостаточность составляет 2–12 %; эметогенность — 10–30 %, даже при использовании адекватной противорвотной терапии; токсический гепатит — 60 %; гипербилирубинемия — 25 %; транзиторная нейротоксичность — 15 %; нарушения со стороны дыхательной системы встречаются редко [14].

В представленном обзоре приведены современные данные по особенностям мониторинга, сопроводительной терапии, токсических осложнений и неотложных состояний при использовании ВДМТХ у детей, требующих активной терапевтической тактики как со стороны детских онкологов, так и анестезиологов-реаниматологов.

ЖИЗНЕУГРОЖАЮЩИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВЫСОКИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТА: ФАКТОРЫ РИСКА, ВОЗМОЖНОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

В литературе обсуждается взаимосвязь между возникновением побочных эффектов терапии МТХ и такими факторами, как задержка элиминации МТХ, возраст, пол [6, 19, 29], количество курсов предшествующей химиотерапии [7, 14], внесосудистое скопление жидкости (плевральные выпоты, асцит, гидроцефалия) [7, 14, 32], предшествующее нарушение функции печени/нефропатия, дегидратация и снижение рН мочи в период инфузии МТХ (<5,5), одновременное использование МТХ с другими лекарственными препаратами (салицилаты, пенициллины, ингибиторы протонной помпы, амфотерицин, рентгеноконтрастные препараты, нестероидные противовоспалительные средства, триметоприм/сульфаметоксазол и др.) [7, 14].

Например, частота развития ОПН в группе пациентов с лимфомами и остеосаркомами составляет 9,1 и 1,5 % соответственно [19]. Авторы объясняют это индивидуальными особенностями исследуемых больных: более старший возраст, мужской пол, снижение скорости клубочковой фильтрации, более частое использование ингибиторов протонной помпы в группе больных с лимфомами [19].

Токсичность терапии МТХ обусловлена в том числе и режимом его введения. У детей с ОЛЛ при использовании МТХ в дозе 5 г/м² за 24 часа ОПН развивается в 0,5–1,0 % случаев, а у пациентов с остеосаркомой с режимом введения МТХ в дозе 12 г/м² за 4 часа — в 1,8 % [24].

Тяжесть постцитостатических осложнений МТХ связана с возрастом пациентов. Так, осложнения менее выражены у лиц младшего возраста, в то время как для старшей возрастной группы характерно развитие токсичности тяжелой степени, которая нередко сопряжена с летальным исходом [28].

Замедление элиминации МТХ может быть связано с экстраваскулярными скоплениями жидкости (асцит, плевральные выпоты, гидроцефалия) [7, 14, 32]. Во избежание развития токсичности в таких случаях целесообразно проведение дополнительного мониторинга концентрации МТХ [32].

Одновременное применение МТХ и других лекарственных препаратов следует учитывать как фактор риска последующей нефротоксичности еще до начала специфической терапии [7, 14]. Наибольшую опасность представляют медикаменты, конкурирующие с МТХ за почечную секрецию, тем самым препятствуя его элиминации (нестероид-

ные противовоспалительные препараты, пенициллин и его производные, салицилаты, пробенецид, гемфиброзил, триметоприм/сульфаметоксазол, амфотерицин, аминогликозиды, рентгеноконтрастные препараты, ингибиторы протонной помпы). С целью исключения развития межлекарственных взаимодействий необходимо их отменять или заменять на альтернативные препараты за день до введения ВДМТХ и до его полной элиминации [14].

Невзирая на то что только 5–20 % МТХ и 1–5 % 7-гидроксиметотрексата элиминируется печенью через желчевыводящие пути [16], в ряде исследований [7, 16] отмечается высокая частота повышения уровня печеночных трансаминаз: аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ) после использования ВДМТХ [7, 14, 27]. Одним из механизмов развития гепатотоксичности является кумуляция и задержка МТХ в тканях печени [6]. Как правило, изменения носят транзиторный характер и использование ВДМТХ не приводит к хроническим заболеваниям печени. Однако с учетом вероятного развития МТХ-гепатотоксичности необходимо убедиться в нормальной функции печени до начала лечения, в связи с чем рекомендовано определение уровня АСТ, АЛТ и билирубина перед каждым курсом терапии [14].

Анамнез тяжелой нефротоксичности после использования ВДМТХ повышает риск развития ОПН при повторных курсах, тем не менее в случаях ее преодоления и восстановления функциональной активности почек последующая терапия может проводиться без ограничений [7, 10]. Одним из маркеров предшествующей нефротоксичности служит снижение клиренса креатинина до начала введения ВДМТХ [14]. Ранее считалось, что нормальный уровень креатинина сыворотки и расчетный клиренс креатинина больше 60 мл/мин позволяет обеспечить адекватную элиминацию МТХ, однако на сегодня известно, что токсические эффекты могут развиваться даже при адекватной функции почек [25].

Гиперперфузия почек и снижение темпа диуреза представляют собой один из основных факторов риска развития ОПН. Пусковым механизмом является дегидратация, как правило, вследствие рвоты/диареи в период проведения химиотерапии [14]. Обсуждается риск развития полиурии, ассоциированной с введением МТХ, причина которой на сегодня до конца не изучена [14]. К. Lau et al. представили два случая развития полиурии после введения ВДМТХ у пациентов с ОЛЛ, не являющейся классическим проявлением лекарственно индуцированного нефрогенного

несахарного диабета (отсутствие гипернатриемии, нормальный уровень антидиуретического гормона и осмолярности мочи). Одной из возможных причин предполагается нарушение реабсорбции электролитов и воды в почечных канальцах, обусловленное накоплением аденозина [18]. Полиурия может приводить к развитию дегидратации и нарушению водно-электролитного баланса и, как следствие, к гипоперфузии почек [14]. Полиурия — относительно управляемый фактор риска, поэтому требуется активное динамическое наблюдение за пациентом, мониторинг баланса жидкости и коррекция инфузионной терапии с учетом патологических потерь [14].

Нефротоксичность, обусловленная использованием ВДМТХ, является серьезным осложнением [24]. С учетом особенностей выведения МТХ (более 90 % элиминируется почками путем клубочковой фильтрации и секреции в проксимальных канальцах) [7, 14, 16] почечная функция должна оцениваться до, во время и после каждого курса ВДМТХ. В настоящее время наиболее часто рекомендуемыми для мониторинга параметрами признаны скорость клубочковой фильтрации [6], креатинин, азот мочевины крови, диурез и рН мочи [7, 14]. Тем не менее сывороточный креатинин служит неспецифичным биомаркером острого повреждения почек, так как повышение его уровня может значительно отставать от момента возникновения почечного инсульта [24]. Возможность использования других биомаркеров для более раннего выявления повреждений почек активно исследуется [14].

Острое повреждение почек обычно сопровождается неолигурической почечной дисфункцией, характеризующейся резким повышением уровня креатинина в сыворотке крови во время или в короткие сроки после завершения инфузии МТХ. Следствием ее развития, как правило, становится задержка элиминации МТХ, что приводит к развитию различных видов токсичности, в том числе гастроинтестинальной (мукозит, тошнота, рвота, диарея), гепато- и нейротоксичности, миелосупрессии. Уремия может стимулировать триггерную зону хеморецепторов, расположенных в продолговатом мозге, активируя вагосимпатическую нервную систему и в конечном счете рвотный центр. Тошнота и рвота вследствие уремии стимуляции могут приводить к острому истощению внутрисосудистого объема, гипоперфузии почек, что, как было описано выше, также способствует развитию нефротоксичности [13, 14].

Для профилактики развития ОПН при введении ВДМТХ применяют алкализацию мочи,

внутривенную гипергидратацию, антитоты МТХ (кальция фолинат) [7, 13, 14]. С целью повышения элиминации МТХ используют форсированный диурез мочегонными средствами (ацетазоламид, «петлевые» диуретики) [6, 14]. Для увеличения темпа диуреза рекомендуется увеличение объема инфузии до 5 л/м²/сут [7, 14]. Динамическое наблюдение и мониторинг соматического статуса (определение баланса жидкости, частая оценка клинического состояния пациента, пульсоксиметрия, рентгенография органов грудной клетки, проведение эхокардиографии пациентам с риском сердечной недостаточности) позволяют осуществлять гидратацию большими объемами жидкости при минимальном риске жизнеугрожающих осложнений [14].

Применение ВДМТХ возможно только при обязательном использовании препаратов-антитотов, снижающих риски развития жизнеугрожающих осложнений. Кальция фолинат (лейковорин), будучи альтернативным источником тетрагидрофолата, позволяет восстанавливать нарушенный биосинтез РНК, ДНК, белков, предотвращая таким образом повреждение клеток при терапии МТХ [7, 21, 24]. Механизм его действия заключается в усилении дальнейшей продукции фолата, что уменьшает потенциальные побочные эффекты, такие как миелосупрессия, гастроинтестинальная и гепатотоксичность, которые, вероятнее всего, возникают в результате нарушения клеточного деления, обусловленного снижением уровня внутриклеточного фолата [13].

Кальция фолинат (лейковорин), как правило, начинают применять через 24–42 часа после начала инфузии ВДМТХ и не рекомендуется использовать позднее 42–48 часов. Задержка начала введения кальция фолината и его недостаточные внутриклеточные концентрации после введения ВДМТХ значительно повышают риск развития жизнеугрожающей токсичности [24].

При достижении концентрации МТХ в плазме менее 0,2 мкмоль/л терапия лейковорином может быть остановлена у пациентов с нормальной функцией почек [24].

Несмотря на стандартную сопроводительную терапию (внутривенную гидратацию, алкализацию мочи, использование антитота), почечная дисфункция отмечается у 1,8 % пациентов, получающих высокие дозы МТХ, в связи с чем при значимой задержке его элиминации должны рассматриваться другие меры возможного предотвращения токсичности, к которым относится использование глюкарпидазы и экстракорпоральных методов детоксикации [13].

Глюкарпидаза (карбоксипептидаза G2) представляет собой рекомбинантный бактериальный фермент, механизм действия которого заключается в быстром гидролизе внеклеточного МТХ до неактивных метаболитов — 4-дезоксид-4-амино-N10-метилптероевой кислоты и глутамата, которые выводятся печенью (с желчью), а не почками [24]. Ограничивают использование препарата в рутинной практике отсутствие регистрации в РФ и высокая стоимость [7]. Глюкарпидаза быстро метаболизирует циркулирующий МТХ и снижает его концентрацию в плазме на 95 % в течение 15 минут после введения, действие глюкарпидазы сохраняется в течение 48 часов. Тем не менее при ее использовании может отмечаться синдром «рикошета», что обусловлено снижением активности глюкарпидазы и перераспределением МТХ из тканей в кровотоки. Однако концентрация МТХ в плазме после применения глюкарпидазы, как правило, существенно ниже, чем до применения фермента [24]. Рекомендуемая безопасная и эффективная доза — однократное внутривенное введение 50 ед/кг [24]. Глюкарпидазу необходимо использовать в течение 48–60 часов от начала инфузии ВДМТХ в случае значительного нарушения темпов элиминации МТХ и превышения порогового значения уровня МТХ в крови, так как после указанного времени ее эффективность резко снижается, а жизнеугрожающая токсичность цитостатика не будет предотвращена [24].

В случаях развития уремии, нарушений электролитного баланса или перегрузки объемом жидкости рекомендуется проведение высокопоточного гемодиализа или непрерывной заместительной почечной терапии [13]. Высокопоточный гемодиализ может использоваться у гемодинамически стабильных пациентов, в то время как непрерывная заместительная почечная терапия эффективна и при нестабильности гемодинамики. Вышеуказанные методы являются терапией спасения, способствуют выведению МТХ, предотвращают перегрузку объемом жидкости, компенсируют электролитный и кислотно-щелочной дисбалансы, а также позволяют удалить уремические токсины [13]. Наибольшей эффективностью отличается высокопоточный гемодиализ, при использовании которого содержание МТХ уменьшается в среднем на 75 % (от 42 до 94 %) [6]. Тем не менее с помощью указанных методов не во всех случаях удается восстановить почечную функцию [13].

При экстремально высоких уровнях МТХ в сыворотке крови, которые не получается снизить высокими дозами лейковорина, необходимо прибегнуть к экстракорпоральным методам (перито-

неальный диализ, гемодиализ, плазмаферез). При этом следует помнить о рисках развития синдрома «рикошета» после прекращения терапии, а также возможных осложнениях диализа (электролитные нарушения, кровотечение в местах стояния катетера, остановка сердца) [7, 14].

Одновременное интратекальное введение цитостатиков, краниальное облучение в анамнезе, наличие опухолевых клеток в ликворе, а также использование других нейротоксичных препаратов повышают риск возникновения токсических осложнений со стороны ЦНС [7, 14].

Интравентрикулярная химиотерапия (например, цитозин-арабинозидом) в сочетании с ВДМТХ может усиливать его токсический эффект, приводя к развитию лейкоэнцефалопатии, поражению мозжечка и нейропсихическим нарушениям [26]. Частота развития нейротоксичности при использовании только внутривенной (в/в) инфузии МТХ составляет 10 %, тогда как при использовании комбинации в/в и интратекального путей введения достигает 40 % [15].

Наиболее токсично сочетание ВДМТХ с лучевой терапией. Лучевая терапия приводит к нарушению гематоэнцефалического барьера, что существенно увеличивает проникновение МТХ, тем самым повышая его уровень в тканях головного мозга. Действие МТХ при наличии поврежденных лучевой терапией тканей головного мозга может вызвать развитие крайне тяжелой лейкоэнцефалопатии [26].

Клиническими проявлениями токсического повреждения ЦНС при применении высоких доз МТХ могут быть головная боль, тошнота, рвота, летаргия, нарушение зрения, афазия, гемипарез, парез, судороги, лейкоэнцефалопатия и арахноидит [9]. Симптомы обычно возникают в течение первых 24 часов после завершения инфузии МТХ [7, 14].

У 40 % пациентов, получающих МТХ, диагностируют специфические изменения по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) или компьютерной томографии, указывающие на развитие лейкоэнцефалопатии, однако только у 11 % пациентов отмечаются клинические проявления нейротоксичности [7, 14, 15]. Степень тяжести неврологических симптомов может варьировать от легких, спонтанно проходящих, до тяжелых явлений, переходящих в хроническое течение. Хронизация в ряде случаев может приводить к летальному исходу [15]. Два наиболее часто встречающихся клинических проявления нейротоксичности МТХ — судороги и окклюзионные сосудистые поражения. Судороги в основном носят спорадический характер, редко

переходят в хроническую эпилепсию. Окклюзионные сосудистые поражения имитируют транзиторную ишемическую атаку, иногда сопровождающуюся развитием парезов или параличей. Описанные состояния требуют оказания неотложной помощи и дальнейшего динамического наблюдения в условиях палаты интенсивной терапии ввиду риска развития жизнеугрожающих состояний с необходимостью проведения искусственной вентиляции легких, коррекции гемодинамических нарушений.

Всем пациентам, у которых сохраняются признаки неврологического дефицита более 24 часов, показано выполнение МРТ [7, 14, 26].

Применение высоких доз МТХ и его интратекальное введение могут служить причиной развития синдрома задней обратимой энцефалопатии (Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome, PRES). Основные клинические проявления PRES представлены головной болью, судорогами, нарушением зрения, нарушением психического статуса, артериальной гипертензией. Неврологический дефицит в 86 % случаев обратим [12, 23]. Для диагностики PRES необходимо проведение МРТ головного мозга в режимах FLAIR, DWI, T2-взвешенных изображений. Типичные МР-признаки PRES: симметричные очаги гиперинтенсивного сигнала преимущественно в белом веществе кортикальных и субкортикальных зон в париетоокципитальных и заднефронтальных областях головного мозга. Лечение PRES симптоматическое и включает назначение противосудорожных и антигипертензивных препаратов, антигипоксантов, умеренную дегидратационную терапию [8, 12].

Несмотря на использование МТХ в течение 50 лет, процесс развития нейротоксичности до конца не изучен [9] и, вероятнее всего, сопряжен с несколькими механизмами [26]. Описанный выше механизм действия МТХ является ключевым в создании препятствий для образования белков, липидов и миелина, что может приводить к процессам демиелинизации [26]. Следовательно, высокие дозы кальция фолината способны уменьшить проявления лейкоэнцефалопатии, вызванной внутривенным и интратекальным введением МТХ [15].

Развитие нейротоксичности может быть обусловлено накоплением аденозина после МТХ-индуцированного снижения синтеза пуринов [7, 9, 14]. Аденозин расширяет сосуды головного мозга, замедляет высвобождение нейротрансмиттеров в пресинаптических соединениях, модифицирует постсинаптический ответ и замедляет передачу импульсов между нейронами [9]. Учитывая высокий уровень аденозина в ЦНС,

исследователи оценивали влияние однократной инфузии аминофиллина в дозе 2,5 мг/кг при развитии нейротоксичности 3–4-й степени в течение 24 часов после введения МТХ у детей, при этом они опирались на его способность вытеснять аденозин из центральных рецепторов. Были получены положительные результаты в виде разрешения неврологических симптомов [9].

Кроме того, при применении МТХ повышается уровень S-аденозилгомоцистеина и гомоцистеина в цереброспинальной жидкости. Известно, что гомоцистеин оказывает возбуждающее действие на рецептор N-метил-D-аспартата, что также может играть важную роль в патогенезе нейротоксичности МТХ. Повышенный уровень гомоцистеина крови связан с гибелью нейронов, повреждением эндотелиальных клеток и инфарктами, что может объяснить сосудистые поражения, имитирующие транзиторную ишемическую атаку, а также возникновение судорог [26]. Декстрометорфан, являясь слабым антагонистом рецепторов N-метил-D-аспартата, может ослаблять нейротоксическое действие гомоцистеина [11].

ОСОБЕННОСТИ ИНФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВЫСОКИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТА

Вопросам инфузионной терапии при критических состояниях у детей посвящено большое количество исследований. Однако широко обсуждаемые в последние годы рекомендации по ограничению объемов инфузии, применению концепции ROSE не совсем приемлемы в педиатрической онкогематологии, что в первую очередь обусловлено токсичностью используемых для основной терапии препаратов [1–5].

МТХ является слабой кислотой [24] и плохо растворим в кислой среде, а его метаболиты в 6–10 раз менее растворимы по сравнению с МТХ [7, 14, 30]. Осаждение кристаллов МТХ происходит в кислой моче (рН 5,5), когда его концентрация в почечных канальцах становится больше 2 ммоль [14, 24]. Формирование кристаллов МТХ и его метаболитов (7-гидроксиметотрексат, 4-дезоксид-4-амино-N-10-метилптеролевая кислота) может привести к обструкции канальцев, прямому токсическому повреждению эпителия почечных канальцев (из-за длительного контакта с МТХ), последующей гипоперфузии почек в результате афферентной вазоконстрикции и, как следствие, к ОПН [14, 24, 30].

Вышеуказанные данные обуславливают необходимость проведения инфузионной терапии глюкозосолевыми растворами в соотношении 1 : 1 в ре-

жиме гипергидратации (2,5–3,5 л/м²/сут) до начала введения МТХ и продолжительностью 24–48 часов после завершения его инфузии до момента полной элиминации из организма. Период элиминации МТХ — время от начала инфузии до момента достижения его концентрации в плазме крови менее 0,25 мкмоль/л [7, 30].

Обязательным является алкализация мочи с использованием 40–50 мЭкв бикарбоната натрия на 1 л жидкости до, во время и после введения ВДМТХ с достижением целевого значения рН мочи 7,0–7,5 [30].

Алкализация мочи больше влияет на растворимость МТХ в моче, чем гипергидратационная инфузионная терапия. Известно, что растворимость МТХ увеличивается в 10 раз при повышении уровня рН мочи с 6 до 7 [24]. Алкализация мочи без проведения гипергидратации служит эффективным и надежным методом предотвращения острой почечной токсичности при применении ВДМТХ у пациентов с остеосаркомой [22].

Рекомендуется поддерживать темп диуреза во время и в течение 24–48 часов после инфузии ВДМТХ как минимум на уровне 2500 мл/м²/сут. При снижении диуреза до 2000 мл/м²/сут и ниже значительно возрастает риск задержки элиминации МТХ [24].

Обязательным условием является определение уровня рН мочи через определенные промежутки времени, отражающие адекватность использования бикарбоната натрия с целью алкализации мочи. Мониторинг рН мочи через равные промежутки времени возможен только при катетеризации мочевого пузыря, что крайне нежелательно и сопряжено с повреждением слизистой у данной категории больных. В связи с этим временные интервалы между оценкой рН мочи будут зависеть от частоты мочеиспускания [33]. Замена мочи на иную биологическую жидкость с целью контроля алкализации не рекомендуется, в редких случаях допустимо определение рН венозной крови (при проведении парных тестов отмечалась слабая корреляция только между показателями рН венозной крови и рН мочи) [33].

U. Yanamandra et al. показали, что среднее значение рН различных жидкостей организма статистически отличается даже при одновременном заборе проб: рН слюны — 6,9, рН венозной крови — 7,39, рН слезной жидкости — 7,45, рН мочи — 7,59. Данный факт обусловлен дифференциальным распределением Н⁺ ионных насосов и диффузии НСО³⁻ в клетках [33].

C. Traivaree et al. провели когортное исследование с целью оценки влияния режима внутривенной

гидратации на клиренс высоких доз МТХ в плазме у детей с онкологическими заболеваниями [27]. Исследовано 37 пациентов в возрасте до 18 лет, общее число курсов ВДМТХ составило 165, среди которых 56 — в дозе 1,5 г/м² за 24 часа при ОЛЛ, 34 — в дозе 1,5 г/м² за 24 часа и 3 г/м² за 4 часа при неходжкинских лимфомах, 75 — в дозе 10–12 г/м² за 4 часа при остеосаркоме. Всем пациентам осуществляли гипергидратацию с использованием различных объемов жидкости и мониторировали уровень МТХ в плазме крови. Объемы инфузионной терапии составляли от 2400 до 3600 мл/м²/сут и соответствовали используемым в Таиланде педиатрическим протоколам (ThaiPOG ALL-01-05, ThaiPOG ALL-02-05, ThaiPOG NHL-04-05, ThaiPOG при остеосаркоме, ВДМТХ в дозе 10–12 г/м² за 4 часа). При выборе режима гидратации учитывали соматический статус пациентов. Были сформированы две клинические группы (получившие менее 3000 и 3000 мл/м²/сут и более). Анализировали следующие данные: 72-часовой уровень МТХ в плазме (уровень 0,1 мкмоль/л и более указывал на задержку элиминации МТХ), объем внутривенной гидратации, уровень НСО₃ в плазме крови, удельный вес мочи, продолжительность инфузии МТХ (3–12 г/м² за 4 часа против 1,5 г/м² за 24 часа), оценивали возможные неблагоприятные последствия гипергидратации, включая клинические симптомы перегрузки объемом жидкости.

Авторы сделали ряд интересных выводов. Во-первых, среди 56 курсов терапии ВДМТХ в дозе 1,5 г/м² за 24 часа при ОЛЛ задержка клиренса МТХ была отмечена только в одном случае с гидратацией менее 3000 мл/м²/сут. Всего с гидратацией в таком объеме был проведен 41 курс. При этом корреляции между токсичностью терапии и уровнями МТХ в крови зафиксировано не было. Во-вторых, из 34 курсов ВДМТХ в дозе 1,5–3 г/м² за 4 часа при НХЛ достоверной корреляции между уровнями МТХ в крови и внутривенной гидратацией не выявлено. Однако при задержке элиминации МТХ наблюдалось повышение числа осложнений. В-третьих, из 75 курсов ВДМТХ в дозе 10–12 г/м² за 4 часа при остеосаркоме нормальный клиренс метотрексата был успешно достигнут во всех случаях с гидратацией 3000 мл/м²/сут и более в отличие от курсов с объемом инфузии менее 3000 мл/м²/сут. Кроме того, в случаях режима гидратации менее 3000 мл/м²/сут, сопровождавшихся задержкой элиминации МТХ в 59 % случаев, отмечено повышение частоты неблагоприятных осложнений. И наконец, в-четвертых, ни у одного из пациентов, получавших агрессивную гидрата-

цию 3000 мл/м²/сут и более, не было диагностировано признаков перегрузки объемом.

Авторы считают, что внутривенная гидратация в объеме 3000 мл/м²/сут и более при введении ВДМТХ в дозе 10–12 г/м² за 4 часа при остеосаркоме строго необходима, тогда как при применении ВДМТХ в режимах до 1,5 г/м² за 24 часа при ОЛЛ может считаться необязательной [27].

В настоящее время в рекомендациях по гипергидратации рассматривается период после начала введения ВДМТХ, в то время как режим выбора инфузии до начала терапии остается спорным. В существующих протоколах лечения онкологических заболеваний по этому вопросу нет единого мнения. Так, например, в протоколе AIEOP-BFM ALL 2009 рекомендуется проведение гидратации с алкализацией мочи за 16–20 часов до начала введения ВДМТХ, тогда как в протоколе NHL-BFM 2012 — за 2 часа до начала инфузии МТХ, притом что доза и режим введения МТХ идентичны — 5 г/м² за 24 часа [17].

В университетской клинике Мангейма (Германия) проведено исследование с целью определения значимости и эффективности внутривенной гидратации за 16–20 часов до начала введения ВДМТХ по сравнению с быстрым режимом в течение 2–4 часов. Исследованы дети до 12 лет, получавшие монокимиотерапию ВДМТХ в соответствии с рекомендациями по лечению ОЛЛ (ALL-BFM 2000 и AIEOP-BMF ALL 2009) и лимфобластной лимфомы (Евро-LB2001 и NHL-BFM 2012) [17]. В результате установить взаимосвязь между режимом регидратации и уровнями МТХ в плазме крови, а также вероятностью развития токсических эффектов не удалось. При опросе большинство родителей предпочли ускоренный режим регидратации ввиду более короткого стационарного лечения. Авторы публикации отмечают необходимость дальнейшего исследования данного вопроса на подростках при использовании других доз и режимов введения ВДМТХ, а также циклов комбинированной химиотерапии [17].

Целью исследования T.S. Mikkelsen et al. было определение возможности предотвращения нефротоксичности МТХ путем продолжительной регидратации. В исследование было включено 47 пациентов (224 курсов ВДМТХ 5–8 г/м²), средний возраст которых составил 4,9 года. Нефротоксичность определяли как повышение уровня креатинина в плазме крови на 50 % от исходного. Пациентам проводили регидратацию в течение 4 и 12 часов с последующим введением ВДМТХ. Почечная токсичность отмечена в 18,5 % от всех инфузий ВДМТХ 5 г/м² и в 40,0 % от всех инфу-

зий ВДМТХ 8 г/м², при этом увеличение длительности предварительной гидратации более 4 часов не снижало риск почечной токсичности и задержки выведения МТХ [20].

Инфузионная терапия является важным компонентом сопроводительного лечения при применении ВДМТХ, позволяющим избежать жизнеугрожающей токсичности. Наряду с этим нерациональная инфузионная терапия может привести к ухудшению состояния пациента и повысить риск летальности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При применении МТХ для лечения онкологических заболеваний у детей необходимо детально анализировать факторы риска развития побочных эффектов и индивидуальные особенности пациента и с их учетом составлять программу сопроводительной терапии.

Сопроводительная терапия позволяет избежать ряда возможных осложнений. Использование больших объемов инфузии, алкализация мочи и терапия лейковорином значительно уменьшают риск тяжелой токсичности после применения высоких доз МТХ, но полностью не исключают случаи жизнеугрожающей токсичности и летальности, связанные с МТХ-индуцированным острым повреждением почек, нейротоксичностью, миелосупрессией.

Инфузионная терапия играет важную роль в предотвращении развития острой почечной недостаточности и задержки элиминации МТХ. При этом обращает на себя внимание малочисленность публикаций, касающихся продолжительности регидратации, почасового темпа инфузии, качественного состава и объема вводимых растворов, влияния каждого из этих параметров и их сочетания на исход различных форм онкологических заболеваний.

С учетом противоречивых данных в отношении вышеперечисленных особенностей инфузионной поддержки как составляющей сопроводительной терапии при использовании МТХ для лечения онкологических заболеваний необходимо проведение дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрович Ю.С., Воронцова Н.Ю., Гребенников В.А., и др. Рекомендации по проведению инфузионно-трансфузионной терапии у детей во время хирургических операций // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2018. – Т. 15. – № 2. – С. 68–84. [Aleksandrovich YS, Vorontsova NY, Grebennikov VA, et al. Recommendations on infusion-transfusion therapy in children undergoing surgery. *Messenger of anesthesiology and resuscitation*. 2018;15(2):68-84. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21292/2078-5658-2018-15-2-68-84>.
2. Александрович Ю.С., Пшениснов К.В. Инфузионная терапия у детей. Пособие для врачей. – СПб.: Тактик-студио, 2015. – 162 с. [Aleksandrovich YS, Pshenisnov KV. Infuzionnaya terapiya u detey. Posobie dlya vrachey. Saint Petersburg: Taktik-studio; 2015. 162 p. (In Russ.)]
3. Пшениснов К.В., Александрович Ю.С., Александрович В.Ю. История инфузионной терапии // Вестник интенсивной терапии. – 2017. – № 4. – С. 66–75. [Pshenisnov KV, Alexandrovich YS, Alexandrovich VY. Fluid management history. *Vestnik intensivnoy terapii*. 2017;(4):66-75. (In Russ.)]
4. Александрович Ю.С., Пшениснов К.В., Миронов П.И., и др. Особенности инфузионной терапии у детей с тяжелой сочетанной травмой // Анестезиология и реаниматология. – 2016. – Т. 61. – № 1. – С. 28–32. [Pshenisnov KV, Aleksandrovich YS, Mironov PI. Features of fluid therapy in children with severe major trauma. *Anesteziol Reanimatol*. 2016;61(1):28-32. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18821/0201-7563-2016-61-1-28-32>.
5. Гордеев В.И. Практикум по инфузионной терапии при неотложных состояниях у детей. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014. – 192 с. [Gordeev VI. Praktikum po infuzionnoy terapii pri neotlozhnykh sostoyaniyakh u detey. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2014. 192 p. (In Russ.)]
6. Джумабаева Б.Т., Бирюкова Л.С. Обзор литературы. Нейротоксичность противоопухолевых препаратов, коррекция их дозы при лечении больных лимфопролиферативными и онкологическими заболеваниями, ассоциированными с почечной недостаточностью // Гематология и трансфузиология. – 2015. – Т. 60. – № 4. – С. 30–35. [Dzhumabaeva BT, Biryukova LS. Nephrotoxicity of antitumor drugs and correction of their doses in therapy of patients with lymphomas and cancer associated with renal failure. *Gematol Transfuziol*. 2015;60(4):30-35. (In Russ.)]
7. Диникина Ю.В., Смирнова А.Ю., Голубева К.М., и др. Применение высоких доз метотрексата у детей с онкологическими заболеваниями: особенности сопроводительной терапии, оценка токсичности // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2018. – Т. 5. – № 2. – С. 11–18. [Dinikina YV, Smirnova AY, Golubeva KM, et al. Use of high doses of the methotrexate in children suffering from some form of cancer: specificities of the accompanying therapy, assessing the toxicity. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2018;5(2):11-18. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/2311-1267-2018-5-2-11-18>.
8. Субора Н.В., Кириченко М.М., Диникина Ю.В., и др. Анализ 3 случаев синдрома задней обратной

- энцефалопатии у детей с гемобластозами: опыт 2 центров // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2018. – Специальный номер. – С. 82. [Subora NV, Kirichenko MM, Dinikina YV, et al. Analiz 3 sluchaev sindroma zadney obratimoy entsefalopatii u detey s gemoblastozami: opyt 2 tsentrov. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2018;(S):82. (In Russ.)]
9. Bernini JC, Fort DW, Griener JC, et al. Aminophylline for methotrexate-induced neurotoxicity. *Lancet*. 1995;345(8949):544-547. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(95\)90464-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(95)90464-6).
 10. Christensen AM, Pauley JL, Molinelli AR, et al. Resumption of high-dose methotrexate after acute kidney injury and glucarpidase use in pediatric oncology patients. *Cancer*. 2012;118(17):4321-4330. <https://doi.org/10.1002/cncr.27378>.
 11. Coker SA, Pastel DA, Davis MC, et al. Methotrexate encephalopathy: Two cases in adult cancer patients, who recovered with pathophysiologically based therapy. *SAGE Open Med Case Rep*. 2017;5:2050313X17706875. <https://doi.org/10.1177/2050313X17706875>.
 12. de Laat P, Te Winkel ML, Devos AS, et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome in childhood cancer. *Ann Oncol*. 2011;22(2):472-478. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq382>.
 13. Feinsilber D, Leoni RJ, Siripala D, et al. Evaluation, Identification, and Management of Acute Methotrexate Toxicity in High-dose Methotrexate Administration in Hematologic Malignancies. *Cureus*. 2018;10(1):e2040. <https://doi.org/10.7759/cureus.2040>.
 14. Howard SC, McCormick J, Pui CH, et al. Preventing and Managing Toxicities of High-Dose Methotrexate. *Oncologist*. 2016;21(12):1471-1482. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0164>.
 15. Jaksic W, Veljkovic D, Pozza C, Lewis I. Methotrexate-induced leukoencephalopathy reversed by aminophylline and high-dose folinic acid. *Acta Haematol*. 2004;111(4):230-232. <https://doi.org/10.1159/000077573>.
 16. Joerger M, Huitema AD, van den Bongard HJ, et al. Determinants of the elimination of methotrexate and 7-hydroxy-methotrexate following high-dose infusional therapy to cancer patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2006;62(1):71-80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2005.02513.x>.
 17. Karremann M, Sauerbier J, Meier C, et al. The impact of prehydration on the clearance and toxicity of high-dose methotrexate for pediatric patients. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(12):2874-2878. <https://doi.org/10.3109/10428194.2014.898143>.
 18. Lau KK, Weiss AR, Jones DP. Polyuria associated with high-dose methotrexate in two patients with acute lymphoblastic leukaemia. *J Oncol Pharm Pract*. 2005;11(1):31-33. <https://doi.org/10.1191/1078155205jp148oa>.
 19. May J, Carson KR, Butler S, et al. High incidence of methotrexate associated renal toxicity in patients with lymphoma: a retrospective analysis. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(6):1345-1349. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.840780>.
 20. Mikkelsen TS, Mamoudou AD, Tuckuviene R, et al. Extended duration of prehydration does not prevent nephrotoxicity or delayed drug elimination in high-dose methotrexate infusions: a prospectively randomized cross-over study. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(2):297-301. <https://doi.org/10.1002/pbc.24623>.
 21. Millan NC, Pastrana A, Gutter MR, et al. Acute and subacute neurological toxicity in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res*. 2018;65:86-93. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2017.12.010>.
 22. Mir O, Ropert S, Babinet A, et al. Hyper-alkalinization without hyper-hydration for the prevention of high-dose methotrexate acute nephrotoxicity in patients with osteosarcoma. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2010;66(6):1059-1063. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1259-3>.
 23. Prasad N, Gulati S, Gupta RK, et al. Is reversible posterior leukoencephalopathy with severe hypertension completely reversible in all patients? *Pediatr Nephrol*. 2003;18(11):1161-1166. <https://doi.org/10.1007/s00467-003-1243-9>.
 24. Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, et al. Consensus Guideline for Use of Glucarpidase in Patients with High-Dose Methotrexate Induced Acute Kidney Injury and Delayed Methotrexate Clearance. *Oncologist*. 2018;23(1):52-61. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0243>.
 25. Rouch JA, Burton B, Dabb A, et al. Comparison of enteral and parenteral methods of urine alkalinization in patients receiving high-dose methotrexate. *J Oncol Pharm Pract*. 2017;23(1):3-9. <https://doi.org/10.1177/1078155215610914>.
 26. Shuper A, Stark B, Kornreich L, et al. Methotrexate-related neurotoxicity in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Isr Med Assoc J*. 2002;4(11):1050-1053.
 27. Traivaree C, Likasitthananon N, Monsereenusorn C, Rujkijyanont P. The effect of intravenous hydration strategy on plasma methotrexate clearance during intravenous high-dose methotrexate administration in pediatric oncology patients. *Cancer Manag Res*. 2018;10:4471-4478. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S172117>.
 28. Treon SP, Chabner BA. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy. *Clin Chem*. 1996;42(8 Pt 2):1322-1329.

29. Wiczer T, Dotson E, Tuten A, et al. Evaluation of incidence and risk factors for high-dose methotrexate-induced nephrotoxicity. *J Oncol Pharm Pract*. 2016;22(3):430-436. <https://doi.org/10.1177/1078155215594417>.
30. Widemann BC, Adamson PC. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. *Oncologist*. 2006;11(6):694-703. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.11-6-694>.
31. Widemann BC, Balis FM, Kempf-Bielack B, et al. High-dose methotrexate-induced nephrotoxicity in patients with osteosarcoma. *Cancer*. 2004;100(10):2222-2232. <https://doi.org/10.1002/cncr.20255>.
32. Wright KD, Panetta JC, Onar-Thomas A, et al. Delayed methotrexate excretion in infants and young children with primary central nervous system tumors and post-operative fluid collections. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015;75(1):27-35. <https://doi.org/10.1007/s00280-014-2614-6>.
33. Yanamandra U, Chauhan P, Lad D, et al. Use of Surrogate Samples to Monitor pH During High dose Methotrexate Therapy. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2017;33(2):188-194. <https://doi.org/10.1007/s12288-016-0711-x>.
34. Zhang W, Zhang Q, Zheng TT, et al. Delayed High-dose Methotrexate Excretion and Influencing Factors in Osteosarcoma Patients. *Chin Med J (Engl)*. 2016;129(21):2530-2534. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.192781>.

◆ Информация об авторах

Екатерина Петровна Евсютина — врач анестезиолог-реаниматолог отделения химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга для детей. ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: olovar90@mail.ru.

Юлия Валерьевна Диникина — канд. мед. наук, доцент кафедры онкологии, детской онкологии и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург; врач-детский онколог, заведующая отделением химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга для детей ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: dinikinayulia@mail.ru.

Маргарита Борисовна Белогурова — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой онкологии, детской онкологии и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург; ведущий научный сотрудник отделения химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга для детей, ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: deton.hospital31@inbox.ru.

Юрий Станиславович Александрович — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реаниматологии и неотложной педиатрии ФП и ДПО. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: jalex1963@mail.ru.

◆ Information about the authors

Ekaterina P. Evsiutina — Anesthesiologist-resuscitator of the Department of Chemotherapy for Oncohematological Diseases and Bone Marrow Transplantation for Children. Almazov Federal Medical Research Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: olovar90@mail.ru.

Yuliya V. Dinikina — MD, PhD, Associate Professor, Department of Oncology, Pediatric Oncology and Radiotherapy, St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; Pediatric Oncologist, Head of the Department of Chemotherapy for Oncohematological Diseases and Bone Marrow Transplantation for Children, Almazov Federal Medical Research Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: dinikinayulia@mail.ru.

Margarita B. Belogurova — MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head, Department of Oncology, Pediatric Oncology and Radiotherapy, St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; Leading Researcher of the Department of Chemotherapy for Oncohematological Diseases and Bone Marrow Transplantation for Children, Almazov Federal Medical Research Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: deton.hospital31@inbox.ru.

Yuriy S. Aleksandrovich — MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head of the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Emergency Pediatrics, Faculty of Postgraduate Education. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: jalex1963@mail.ru.