

Применение тестовой дозы и последующей индивидуализации дозирования бусульфана на основе байесовского подхода для улучшения клинических результатов трансплантации костного мозга у детей

Н. Блейзак^{1,3}, Г. Сулле², П. Магрон¹, А. Жаноли¹, П. Мартин^{1,3}, И. Бертран², К. Галамбрун², К. Дай², П. Майер^{3,4}, Р. Джеллифф⁴, Г. Олагнер¹

¹ — Департамент фармации госпиталя Дебрусс, Лион, Франция

² — Отделение детской иммунно-гематологии и пересадки костного мозга госпиталя Дебрусс, Лион, Франция

³ — Госпиталь Франшевилля, Франция

⁴ — Лаборатория прикладной фармакокинетики Университета Южной Калифорнии, Лос-Анжелес, США.

Для того, чтобы учесть фармакокинетическую вариабельность поведения бусульфана и повысить безопасность проводимой терапии, в детском отделении трансплантации костного мозга был разработан специальный протокол процедуры терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ). Этот протокол представляет собой получение пациентом тестовой дозы бусульфана, прогноз концентраций препарата в крови пациента в течение суток, индивидуализация режима дозирования на основе байесовского подхода. 29 детям была проведена операция по пересадки костного мозга после получения бусульфана. Индивидуальные значения фармакокинетических (ФК) параметров были оценены после получения пациентом тестовой дозы препарата (0,5 мг/кг) и использовались для индивидуализации режима дозирования в течение последующего 4-дневного курса терапии. Дозы препарата рассчитывались с тем, чтобы достигалась желаемая терапевтическая цель, установленная как среднее значение площади под ФК кривой (AUC) за 6 часов в пределах 4-6 мг·ч/мл. Измерения концентрации бусульфана в крови проводились хроматографически. Для анализа ФК данных применялся пакет прикладных программ USC*PACK. Была оценена точность прогноза значений AUC на основе тестовой дозы. Проявления токсичности, рецидивы, выживаемость, частота и сроки возникновения веноооклюзивной болезни (ВОБ) оценивались и сравнивались с контрольной группой: пациенты изучаемой группы (группа А) сопоставлялись по определенным критериям с пациентами, получавшими стандартные дозы бусульфана (группа Б). Дозы бусульфана в группе А были снижены по сравнению со стандартными в 69% случаев. Ожидаемые значения AUC значимо коррелировали с наблюдаемыми значениями, и точность прогноза на основе тестовой дозы была оценена как 101,9±17,9%. Частота ВОБ в группе А была 3,4% по сравнению с 24,1% в группе Б, частота появления стоматитов была практически одинаковой. Приживление трансплантата было успешным у всех пациентов группы А. Частота полного приживления в течение 3 месяцев после пересадки была выше в группе А (p=0,012). Выживаемость в течение длительного периода наблюдения не отличалась в сравниваемых группах, в отличие от 90-дневной выживаемости. Статистическое сравнение периодов времени (анализ выживаемости) без развития тромботических осложнений продемонстрировало преимущества в группе А (p=0,026). ФК мониторинг и индивидуализация режимов дозирования бусульфана позволили улучшить клинические результаты и снизить смертность у детей в ранний послеоперационный период.

ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация костного мозга (ТКМ) у детей остается необходимой при лечении некоторых гематологических заболеваний, включая острые лейкозы, миелодиспластические синдромы, апластичес-

кую анемию, анемию Фанкони, тяжелые врожденные иммунодефицитные синдромы), а также метаболические синдромы, такие как синдром Хурлера.

Высокие дозы бусульфана были предложены в качестве альтернативы тотальному облучению тела для подготовки к трансплантации костного мозга, во избежание

Статья была опубликована в журнале Bone Marrow Transplantation 28: 743-751, 2001.

«Improved Clinical Outcome of Paediatric Bone Marrow Recipients Using a Test Dose and Bayesian Pharmacokinetic Individualization of Busulfan Dosage Regimens»

N. Bleyzac^{1,3}, G. Souillet², P. Magron¹, A. Janoly¹, P. Martin^{1,3}, Y. Bertrand², C. Galambrun², Q. Dai², P. Maire^{3,4}, R. Jelliffe⁴, G. Aulagner¹

Печатается в переводе с разрешения редакции журнала

тяжелой токсичности у детей [1]. Бусульфан характеризуется низким значением терапевтического индекса. Основные проявления токсичности бусульфана относятся к нарушению функции печени (веноокклюзивная болезнь) и снижают выживаемость после ТКМ. ВОБ представляет собой основную проблему токсичности высоких доз бусульфана, средняя частота появления оценивается как 20-30%, показатель смертности варьируется по данным литературы в от 3 до 67% [2-7].

Как обычно при использовании алкилирующих соединений, терапевтический и побочные эффекты терапии бусульфаном были соотнесены с площадью под кривой изменения концентрации препарата в крови во времени (AUC), нормированной на интервал дозирования (6 часов для бусульфана). В литературе встречаются различные пороговые значения для переменной AUC бусульфана за 6-часовой интервал дозирования, выше которых частота случаев возникновения ВОБ возрастала. В основном, эти значения были в пределах 5-7 мг·ч/л [8-12]. Только в одном исследовании эта величина порогового значения была порядка 13,1 мг·ч/л [13]. С другой стороны, недостаточность трансплантата ассоциировалось со значениями AUC бусульфана ниже 3-4 мг·ч/л [8, 14]. Тем не менее, выбор конкретного значения AUC за 6-часовой интервал дозирования бусульфана в качестве терапевтической цели по-прежнему остается открытым вопросом, поскольку все опубликованные исследования проводились в разных условиях. В опубликованных исследованиях применялись разные методы оценки показателя AUC, в некоторых статьях этот показатель вычислялся на основе измерений концентрации после получения только одной дозы препарата. Принимая во внимание интраиндивидуальную вариабельность фармакокинетики бусульфана [15], можно сказать, что такой подход может привести к переоценке или недооценке средних значений AUC, наблюдаемых в течение 4 дней проводимой терапии. Другая проблема при сравнении результатов может возникать из-за различий в способах сбора проб крови и аналитических методах измерения концентрации бусульфана.

Низкие значения терапевтического индекса и значительная межиндивидуальная ФК вариабельность приводят к невозможности достичь выбранного терапевтического значения AUC при использовании стандартного режима дозирования бусульфана 1 мг/кг/6ч и, особенно у детей. Клиренс бусульфана обычно выше у детей младшего возраста [10, 16], поэтому была предложена корректировка доз на основе площади поверхности тела [17], однако и этот подход не позволяет полностью исключить межиндивидуальную вариабельность. Действительно учесть межиндивидуальные различия в фармакокинетике бусульфана можно на основе оценки индивидуальных фармакокинетических параметров для каждого пациента. Байесовские методы позволяют проводить такую индивидуализацию по минимальному числу измерений концентрации препарата в крови [18].

Таким образом, поскольку значительная межиндивидуальная ФК вариабельность бусульфана, особенно проявляющаяся у детей, не позволяет проводить эффективную и безопасную подготовку к операции по ТКМ, было решено использовать процедуру ТЛМ, представляющую собой суточный мониторинг значений AUC, а также байесовскую оценку клиренса бусульфана после получения начальной тестовой дозы препарата. В этой статье представлены результаты проспективного исследования, включающего 29 детей, получавших бусульфан при подготовке к операции по ТКМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Проспективное исследование включало 29 пациентов, получавших бусульфан при подготовке к операции по ТКМ (без облучения) в отделении трансплантации костного мозга госпиталя Дебрусс в период между январем 1998 и июнем 2000 г. Возраст пациентов был в диапазоне от 3 месяцев до 18 лет (средний возраст $\pm$ стандартное отклонение $6,9 \pm 5,7$ лет). Всем пациентам был пересажен немодифицированный трансплантат костного мозга. Показаниями для операции были: болезни накопления, большая талассемия (анемия Кули), врожденные комбинированные иммунодефицитные синдромы и злокачественные заболевания крови. В таблице 1 представлены характеристики пациентов. Все пациенты, кроме пациента № 20, получали алпростадил (0,125 мг/сутки для пациентов моложе 3 лет и 0,250 мг/сутки для пациентов более старшего возраста) и гепарин 20 МЕ /кг/сутки в течение 30 дней после начала терапии бусульфаном для предотвращения ВОБ. До дня трансплантации пациенты также получали клоназепам (0,1 мг/кг/сутки) для предотвращения судорог, вызываемых бусульфаном. Профилактика реакции «трансплантат-против хозяина» (РТПХ) включала циклоспорин в течение 6 месяцев (9 месяцев в случае злокачественных заболеваний) и короткие курсы метотрексата и анти timоцитарного глобулина в случае неродственных доноров и пациентов с талассемией. Основными режимами дозирования были бусульфан-циклофосфамид (200 мг/кг) у 79% пациентов, бусульфан-циклофосфамид (200 мг/кг) — этопозид (60 мг/кг) у 7% и бусульфан-циклофосфамид (200 мг/кг) — мелфалан (140 мг/м²) — у 14% включенных в исследование детей. Все пациенты получали внутривенно иммуноглобулин (0,25 г/кг в неделю, если донором был родной брат или сестра, и 0,5 г/кг в неделю в остальных случаях) и были изолированы в ламинарных боксах. Индивидуально рассчитанные дозы бусульфана пациенты получали каждые 6 часов в течение 4 дней (всего 16 доз). Капсулы с бусульфаном, приготовленные фармацевтом, пациенты получали перорально натошак. Капсулы проглатывались детьми старшего возраста или их содержимое смешивалось с тушеными яблоками для самых маленьких пациентов.

Таблица 1

Информация о пациентах

№ пациента (пол) – группа	Показания для ТКМ	Донор	Возраст (лет)	Предоперационная терапия	Печень перед ТКМ
1 (Ж) - Группа А	Hurler	MMUD class I (A, CW)	2.1	Bu Cy	N
2 (М) - Группа А	Hurler	MMUD class I (A), II (DRB3)	2.7	Bu Cy	N
3 (Ж) - Группа А	Hurler	MUD	1.4	Bu Cy	N
4 (М) - Группа А	Hurler	MMUD class I (A, 2CW*)	1.6	Bu Cy	N
5 (Ж) - Группа А	Hurler	MMUD class I (A, 2CW*)	2.2	Bu Cy	N
6 (Ж) - Группа А	Hurler	SIB	2.9	Bu Cy	N
7 (Ж) - Группа А	Hurler	MMUD class I (A,B*), II (DRB4)	2.1	Bu Cy	N
8 (Ж) - Группа А	Hurler	MMUD class I (B*, CW*), II (DQB*)	2.0	Bu Cy	N
9 (М) - Группа А	Hunter	SIB	16.3	Bu Cy	N
10 (М) - Группа А	Niemann-Pick	SIB	0.6	Bu Cy	N
11 (Ж) - Группа А	Thalassemia	SIB	2.2	Bu Cy	+
12 (М) - Группа А	Thalassemia	SIB	11.4	Bu Cy	N
13 (Ж) - Группа А	CID	SIB	12.5	Bu Cy	N
14 (М) - Группа А	CID	SIB	18.0	Bu Cy	+++
15 (М) - Группа А	CID	SIB	9.8	Bu Cy	+++
16 (М) - Группа А	ALL	MMUD class II (DRB3)	3.2	Bu Cy VP16	+
17 (М) - Группа А	ALL	MMUD class I (A,B,C)	2.9	Bu Cy VP16	N
18 (М) - Группа А	AML	MMUD class I (CW)	8.4	Bu Cy	N
19 (Ж) - Группа А	AML	MMUD class I (A,CW), II (DQB1*)	7.6	Bu Cy	N
20 (М) - Группа А	AML	SIB	15.0	Bu Cy	N
21 (Ж) - Группа А	AML	SIB	17.3	Bu Cy	N
22 (Ж) - Группа А	MDS	SIB	2.5	Bu Cy	N
23 (М) - Группа А	AML	SIB	15.6	Bu Cy	N
24 (М) - Группа А	AML	SIB	4.4	Bu Cy	N
25 (М) - Группа А	AML	MMUD class I (CW)	2.0	Bu Cy	N
26 (М) - Группа А	JMML	MMUD class I (B*)	2.7	Bu Cy Melph	N
27 (М) - Группа А	MDS	MMUD class I (A, CW)	10.2	Bu Cy Melph	++
28 (М) - Группа А	MDS	SIB	10.3	Bu Cy Melph	++
29 (Ж) - Группа А	MDS	MMUD class I (A,B,CW), II (DRB3*)	9.9	Bu Cy Melph	N
1' (Ж) - Группа Б	Hurler	MMUD class I (A, CW)	1.1	Bu Cy	N
2' (М) - Группа Б	Hunter	SIB	3.1	Bu Cy	N
3' (Ж) - Группа Б	Hurler	MMUD class I (A, CW*)	1.2	Bu Cy	N
4' (М) - Группа Б	Hurler	MMUD class I (A*, CW), II (DRB3)	1.6	Bu Cy	N
5' (М) - Группа Б	Hurler	MUD	1.8	Bu Cy	N
6' (М) - Группа Б	Hurler	MMUD class I (A)	3.8	Bu Cy	N
7' (Ж) - Группа Б	Hurler	MUD	1.7	Bu Cy	N
8' (М) - Группа Б	Hurler	MUD	2.0	Bu Cy	N
9' (М) - Группа Б	Hunter	MMUD class I (CW)	6.0	Bu Cy	N
10' (М) - Группа Б	LHC	Haploid.	0.7	Bu Cy	N
11' (М) - Группа Б	Wiskott-A.	MMUD class I (CW)	4.7	Bu Cy	+
12' (Ж) - Группа Б	Thalassemia	SIB	11.2	Bu Cy	N
13' (М) - Группа Б	CID	MMUD class I (A,B,C)	1.5	Bu Cy	N

Продолжение таблицы 1

№ пациента (пол) – группа	Показания для ТКМ	Донор	Возраст (лет)	Предоперационная терапия	Печень перед ТКМ
14' (М) - Группа Б	CID	MMUD class I (A,B,C)	0.7	Bu Cy	+
15' (Ж) - Группа Б	CID	MMUD I (A*,CW*), II (DRB3*, DQB1*) DQB1*)DDQB1*)	0.3	Bu Cy	+++
16' (М) - Группа Б	ALL	MUD	0.9	Bu Cy VP16	N
17' (Ж) - Группа Б	ALL	MUD	2.2	Bu Cy VP16	N
18' (Ж) - Группа Б	AML	SIB	8.3	Bu Cy	N
19' (Ж) - Группа Б	AML	SIB	14.0	Bu Cy	N
20' (Ж) - Группа Б	AML	SIB	16.9	Bu Cy	N
21' (Ж) - Группа Б	AML	MUD	17.1	Bu Cy	N
22' (М) - Группа Б	MDS	MUD	6.1	Bu Cy	N
23' (Ж) - Группа Б	ALL	SIB	14.0	Bu Cy VP16	N
24' (Ж) - Группа Б	AML	SIB	4.5	Bu Cy	N
25' (Ж) - Группа Б	AML	SIB	2.0	Bu Cy	N
26' (М) - Группа Б	ALL	MMUD class I (A,B,C)	6.4	Bu Cy VP16	N
27' (М) - Группа Б	MDS	SIB	11.5	Bu Cy Melfh	N
28' (Ж) - Группа Б	ALL	SIB	14.0	Bu Cy VP16	++
29' (Ж) - Группа Б	AML	SIB		Bu Cy	N

SIB: донором является родной брат или сестра (сисбы); MUD: подходящий неродственный донор; MMUD: неподходящий неродственный донор
(*: аллельный, без*: антигенный)

N: норма; +: 50-100 UI/L; ++: 100-150 UI/L; +++: >150 UI/L

Измерение концентрации бусульфана в плазме крови

Концентрации бусульфана в плазме крови измерялись с помощью жидкостной хроматографии. Для этого был разработан новый метод [19], дающий возможность быстро в течение суток корректировать назначаемые дозы препарата, то есть не требующий продолжительного времени для анализа проб. Коэффициенты вариации метода в течение суток и между сутками были менее 5%, предел определяемости был 25 нг/мл, и только 200 мкл плазмы требовалось для анализа. Для повышения точности метода измерений, пробы крови сразу же помещались в лед, во избежание ферментативной деградации и центрифугировались без задержки. Плазма сразу же помещалась в полипропиленовые пробирки во избежание адсорбции на стекле.

Индивидуализация режимов дозирования бусульфана

Тестовая доза бусульфана (0,5 мг/кг) давалась пациентам перорально до начала режима дозирования для подготовки к операции по ТКМ. Три пробы крови брались в пробирки, содержащие гепарин, через 1 час, 2,5 и 5 часов после получения тестовой дозы. Моменты времени измерений были выбраны на основе теории планирования эксперимента [20, 21]. Для описания поведения бусульфана в организме использовалась традиционная линейная однокамерная ФК модель с константой процесса абсорбции первого порядка K_a ; объемом распределения, нормированным на массу те-

ла пациента V_s ; и константой скорости элиминации K_{el} . Значения параметров оценивались на основе нелинейной регрессии с помощью программы, входящей в состав пакета п/п USC*PACK [22]. Индивидуальные значения ФК параметров K_a , V_s и K_{el} использовались для прогноза будущих концентраций бусульфана в крови пациента, при этом рассчитывались дозы, требующиеся этому пациенту для достижения определенной терапевтической цели (AUC за 6-часовой интервал дозирования). Капсулы, содержащие назначаемые дозы бусульфана, готовились и проверялись (метод измерения бусульфана с помощью ВЭЖХ) фармацевтами госпиталя.

Для верификации метода и проверки достижения выбранных терапевтических целей на практике значения AUC монитировались в течение 4 дней терапии. Индивидуальные значения ФК параметров бусульфана оценивались в каждый из 4 дней на основе минимального числа измеряемых проб крови: через 1; 2,5 и 5 часов после получения первой дозы, затем через 1,5 и 5 часов после пятой, девятой и тринадцатой доз (мониторинг после получения первой дозы в каждый из дней терапии). Значения AUC рассчитывались на основе байесовского подхода с помощью программы USC*PACK. После получения тестовой дозы пациентом и оценки его индивидуальных значений ФК параметров дальнейшие расчеты и прогнозы основывались на индивидуальных значениях вместо соответствующих средних популяционных значений. Таким обра-

Таблица 2

Сравнение стандартного и индивидуального режимов дозирования бусульфана

Пациен-ты	Суммарная стандартная доза бусульфана	Суммарная индивидуальная доза бусульфана	Отклонение, %
1	27.0 мг/кг (600 мг/м ²)	24.2 мг/кг (538 мг/м ²)	-10.4
2	22.9 мг/кг (600 мг/м ²)	20.0 мг/кг (524 мг/м ²)	-12.7
3	26.7 мг/кг (600 мг/м ²)	21.4 мг/кг (481 мг/м ²)	-19.9
4	23.6 мг/кг (600 мг/м ²)	22.3 мг/кг (567 мг/м ²)	-5.5
5	25.0 мг/кг (600 мг/м ²)	25.0 мг/кг (600 мг/м ²)	0.0
6	27.1 мг/кг (600 мг/м ²)	20.6 мг/кг (456 мг/м ²)	-24.0
7	28.3 мг/кг (600 мг/м ²)	32.8 мг/кг (695 мг/м ²)	+15.9
8	25.4 мг/кг (600 мг/м ²)	26.0 мг/кг (614 мг/м ²)	+2.4
9	17.5 мг/кг (600 мг/м ²)	15.2 мг/кг (521 мг/м ²)	-13.1
10	27.5 мг/кг (600 мг/м ²)	12.2 мг/кг (266 мг/м ²)	-55.6
11	20.0 мг/кг	20.5 мг/кг	-12.7
12	16.0 мг/кг	17.1 мг/кг	+6.9
13	16.0 мг/кг	17.2 мг/кг	+7.5
14	16.0 мг/кг	10.7 мг/кг	-33.1
15	16.0 мг/кг	10.8 мг/кг	-32.5
16	20.0 мг/кг	16.6 мг/кг	-17.0
17	23.8 мг/кг (480 мг/м ²)	20.6 мг/кг (415 мг/м ²)	-13.4
18	17.9 мг/кг (480 мг/м ²)	18.6 мг/кг (499 мг/м ²)	+3.9
19	16.0 мг/кг	18.0 мг/кг	+12.5
20	16.0 мг/кг	17.1 мг/кг	+6.9
21	16.0 мг/кг	14.0 мг/кг	-12.5
22	18.2 мг/кг (480 мг/м ²)	16.8 мг/кг (443 мг/м ²)	-11.0
23	16.0 мг/кг	11.8 мг/кг	-26.3
24	20.3 мг/кг (480 мг/м ²)	12.8 мг/кг (303 мг/м ²)	-36.9
25	23.1 мг/кг (480 мг/м ²)	19.7 мг/кг (409 мг/м ²)	-14.7
26	20.0 мг/кг	23.1 мг/кг	+15.5
27	16.0 мг/кг	11.5 мг/кг	-28.1
28	18.7 мг/кг (480 мг/м ²)	17.4 мг/кг (447 мг/м ²)	-7.0
29	16.0 мг/кг	13.4 мг/кг	-16.3

зом, внутрииндивидуальная ФК вариабельность может быть учтена и взята под контроль [23].

Стандартное отклонение ошибки измерений концентраций бусульфана (SD) была введена и учитывалась в программа USC*PACK в форме полинома:

$$S.D. = 0,0135C^3 - 0,077C^2 + 0,1493C,$$

где C — наблюдаемая концентрация бусульфана.

Ежедневные оценки индивидуальных значений ФК параметров позволяли нам вычислять оптимальные дозы для достижения среднего по 4 дням терапии значения AUC за 6-часовой интервал дозирования. Желательные значения AUC ранжировались от 3,5 до 6 мг·ч/л в зависимости от показаний к операции по ТКМ. Более низкие значения AUC требовались для пациентов

с апластической анемией и для пациентов, у которых функция печени была нарушена в ходе предшествующих курсов противоопухолевой химиотерапии (пациенты №№ 12, 13, 24, 25, 29) или в результате других имеющихся патологий (пациенты №№ 10, 14, 15). Для этих пациентов терапевтическая цель выбиралась в пределах 3,5 — 3,8 мг·ч/л [14]. Предложенный метод измерения концентрации бусульфана позволял быстро получать результаты анализа и проводить процедуру ТЛМ каждый день. При этом корректировка дозы бусульфана могла осуществляться каждый день до получения пациентом третьей дозы за каждые сутки. Дозы бусульфана корректировались последовательно по мере получения новых результатов измерений, то есть

вплоть до получения четырнадцатой дозы, а две первые дозы рассчитывались на основе измерений концентрации после получения тестовой дозы. Для того чтобы осуществлять такую корректировку на практике, фармацевты госпиталя должны были иметь банк капсул бусульфана с дозами от 5 до 60 мг.

В соответствии с французским законодательством это исследование было одобрено Комитетом по защите прав личности при Биомедицинском Исследовательском Центре г. Лиона, и все родители пациентов подписали информированное согласие

Оценка точности метода.

Оценка точности прогноза на основе тестовой дозы проводилась с помощью сравнения: 1) среднего значения AUC за интервал дозирования, предсказанного с помощью моделирования на период 4-дневного курса на основе оценки индивидуальных значений ФК параметров после получения тестовой дозы (предсказанное значение AUC); 2) и соответствующего среднего значения AUC, рассчитанного программой USC*PACK последовательно по всем имеющимся измерениям концентрации у пациента в течение 4-дневного курса (наблюдаемое значение AUC).

Все значения AUC нормировались на индивидуальное значение дозы бусульфана, получаемой пациентом за 6-часовой интервал дозирования. Способность рассчитанных после получения тестовой дозы значений AUC (предсказанных AUC) прогнозировать наблюдаемые значения AUC оценивалась двумя способами. Во-первых, предсказанные и наблюдаемые значения анализировались методом линейной регрессии. Во-вторых, так называемые проценты “прогнозируемости” вычислялись по следующей формуле: (среднее наблюдаемое значение AUC за 6-часовой интервал дозирования / суммарная доза за период терапии в мг/кг) × (суммарная доза, рассчитанная на основе ТЛМ после получения тестовой дозы / среднее предсказанное значение AUC за 6-часовой интервал дозирования).

Преимущества индивидуализации дозирования бусульфана для клинической практики оценивались с помощью сопоставления 29 пациентов группы А с 29 пациентами контрольной группы, которым ранее проводилась операция по ТКМ и которым назначались стандартные (протоколы SFGM или EBMT) дозы бусульфана (группа Б). Ретроспективные данные использовались, поскольку после внедрения процедуры ТЛМ бусульфана в нашем госпитале рандомизация казалась нам неэтичной. Критериями при сопоставлении пар были:

- показания для пересадки костного мозга,
 - состояние функции печени перед операцией,
 - проводилась или нет противоопухолевая химиотерапия,
 - возраст,
 - профилактика тромботических осложнений,
 - сходство трансплантата (если это было возможно).
- Инциденты токсичности (тромботические ослож-

нения, стоматит, легочные осложнения), недостаточность трансплантата (определяемая как доказательное отсутствие донорских клеток), смешанный химеризм и полное приживление (определяемое как 100% донорский химеризм) сравнивались в обеих группах с помощью теста χ^2 . Также проводилось сравнение выживаемости в двух группах методом Каплана-Майера и сравнение периодов времени (анализ выживаемости) без развития тромботических осложнений (логранговый критерий). Приживление определялось с помощью молекулярной биологии по ДНК, экстрагированной из медуллярной крови [24].

Статистический анализ проводился с помощью программы SPSS для Windows (версия 9.0, SPSS, Chicago, IL, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты корректировки режимов дозирования у 29 пациентов представлены в таблице 2. По сравнению с обычно назначаемыми стандартными дозами (480 или 600 мг/м² для детей младшего возраста или 16 мг/кг для детей старшего возраста) дозы были снижены у 69% пациентов, повышены у 27,6% пациентов и остались неизменными только у 3% пациентов. Пациенты, которые должны были бы получать 16 или 20 мг/кг бусульфана, в результате индивидуализации получали $14,2 \pm 2,9$ мг/кг или $20,1 \pm 3,3$ мг/кг соответственно. Пациенты, которым суммарные дозы бусульфана 480 или 600 мг/м² должны были бы назначаться, получали соответственно 419 ± 65 или 526 ± 115 мг/м². Дозы были снижены у 67%, увеличены у 22% и остались неизменными только у 11% пациентов с синдромом Хурлера, дозы были соответственно снижены, повышены и не изменены у 68%, 32% и 0% пациентов с гематологическими заболеваниями.

Индивидуальные значения средних AUC, достигаемых за 6-часовой интервал, в основном были в выбранных терапевтических пределах (см. таблицу 3), кроме первых включенных в исследование пациентов (пациенты №№ 1, 16, 18, 27). Действительно, терапевтические значения целей пришлось скорректировать (снизить) после анализа данных этих пациентов и появления практического опыта индивидуализации.

Результаты анализа точности прогноза на основе тестовой дозы представлены на рис. 1 и в таблице 3. Точность прогноза AUC была $101,9 \pm 17,9\%$. Точность прогноза на основе тестовой дозы была достаточно высокой у 52% пациентов (90-110%) и приемлемая у 83% (80-120%). Статистически значимая линия регрессии была получена для предсказанных и наблюдаемых значений AUC, она может быть описана следующим уравнением:

$$\begin{aligned} \text{наблюдаемое значение AUC} = & 0,8434 \times \\ & \times \text{предсказанное значение AUC} + \\ & + 0,0426 \quad (r=0,89; p<0,01). \end{aligned}$$

Группы пациентов были сравнимы по показаниям к операции по ТКМ, возрасту, трансплантату, состоя-

Таблица 3

Оценка точности прогноза на основе тестовой дозы бусульфана

Пациенты	Предсказанное значение AUC (мг·ч/л) /предсказанная доза бусульфана (мг/кг)	Наблюдаемое значение AUC(мг·ч/л) / суммарная полученная доза бусульфана (мг/кг)	Интервал между тестовой дозой и терапией (дней)	Точность прогноза, %
1	6.50 / 24.0	6.20 / 24.2	37	105.7
2	5.89 / 20.0	4.87 / 20.0	2	82.7
3	6.50 / 23.2	5.11 / 21.4	4	85.2
4	5.44 / 20.5	5.16 / 22.3	3	87.2
5	5.14 / 24.2	4.23 / 25.0	5	79.7
6	4.61 / 23.2	4.13 / 20.6	20	99.0
7	4.22 / 28.2	3.39 / 32.8	5	144.8
8	4.16 / 23.4	4.39 / 26.0	26	105.2
9	4.98 / 17.3	4.79 / 15.2	33	109.4
10	4.17 / 12.5	3.82 / 12.2	5	106.5
11	2.86 / 16.0	5.62 / 20.5	5	153.3
12	3.28 / 15.6	3.73 / 17.1	6	96.5
13	5.40 / 23.0	3.50 / 17.2	105	86.7
14	5.73 / 16.0	4.18 / 10.7	37	109.1
15	3.59 / 13.0	3.55 / 10.8	38	83.6
16	6.25 / 11.5	7.19 / 16.6	22	125.5
17	6.00 / 20.7	5.81 / 20.6	14	97.3
18	6.00 / 18.6	6.20 / 18.5	5	103.9
19	6.00 / 22.7	4.59 / 18.0	39	96.5
20 *	5.69 / 31.6	5.95 / 17.1	15	159.6
21	5.92 / 17.3	5.32 / 14.0	6	111.0
22	4.73 / 17.0	4.13 / 16.8	4	88.4
23	5.40 / 13.6	4.96 / 11.8	8	94.5
24	4.00 / 15.6	3.83 / 12.8	124	85.6
25	4.72 / 20.0	3.49 / 19.7	11	132.9
26	3.68 / 20.8	4.26 / 23.1	20	95.9
27	9.93 / 14.3	7.50 / 11.5	4	93.9
28	6.03 / 20.0	4.86 / 17.4	14	92.6
29	4.01 / 13.7	3.91 / 13.4	7	100.3
				103.9 ± 20.5 без *: 101.9 ± 17.9

* тестовая доза бусульфана принята не натошак

нию печени до операции (см. таблицу 4). Инциденты ВОБ (все степени тяжести) в группе А были значительно реже (один пациент: 3,4%) по сравнению с контрольной группой (семь пациентов: 24,1%) ($p < 0,05$). Только один пациент группы А с ВОБ не получал терапии алпростадилем и гепарином, все остальные пациенты обеих групп получали алпростадил и низкие дозы гепарина. Средние значения AUC бусульфана, наблюдаемые у этого пациента, не превышали 5,95 мг·ч/л

в интервале дозирования и не были выше значений, наблюдаемых у пациентов без ВОБ. Частота появления стоматита практически не различалась в сравниваемых группах. Тем не менее, наблюдалась тенденция снижения частоты появления тяжелого стоматита (II-IV степени) в группе А (таблица 4), хотя различия не были статистически значимыми. Средние значения AUC, достигавшиеся у пациентов группы А были практически одинаковыми (тест Манна-Уитни, $p < 0,73$) у паци-

Таблица 4

Сравнение характеристик пациентов в группах А и Б.

	Группа А (n=29)	Группа Б (n=29)	P
Пол (М/Ж)	1.64	0.93	0.291
Возраст (лет)	6.82 ± 5.61	5.84 ± 5.39	0.294
Показания для ТКМ	Inborn errors: 15 (SCID: 3; Hunter: 1; Hurler: 8; Nieman-Pick: 1 Thalassemia: 2; Wiskott-Aldrich: 0, LHC: 0) Malignant diseases: 14 (CMML: 1; ALL: 2; AML: 7; MDS: 4)	Inborn errors: 15 (SCID: 3; Hunter: 2; Hurler: 7; Nieman-Pick: 0 Thalassemia: 1; Wiskott-Aldrich: 1; LHC: 1) Malignant diseases: 14 CMML: 0; ALL: 5; AML: 7; MDS: 2)	0.755
Донор	SIB: 14 MUD: 1 MMUD: 14 Haploid: 0	SIB: 11 MUD: 7 MMUD: 10 Haploid: 1	0.089
Функция печени до ТКМ	Нормальная: 23 Нарушенная: 6	Нормальная: 25 Нарушенная: 4	0.487
Курс противоопухолевой химиотерапии	None: 16 1 мес до BMT: 10 3 мес до BMT: 3 > 3 мес до BMT: 0	None: 15 1 мес до BMT: 9 3 мес до BMT: 4 > 3 мес до BMT: 1	0.734

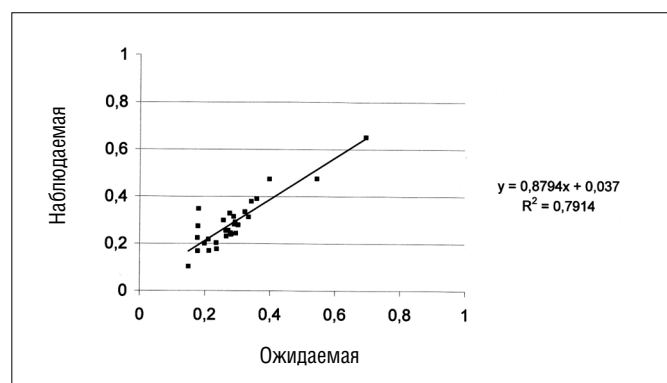


Рисунок 1. Линейная регрессия: предсказанные AUC за 6-часовой интервал дозирования, отнесенные к прогнозируемой необходимой дозе (мг/кг) (AUC TD) против наблюдаемых у пациентов AUC бусульфана, отнесенные к суммарным получаемым пациентами дозам (AUC COND).

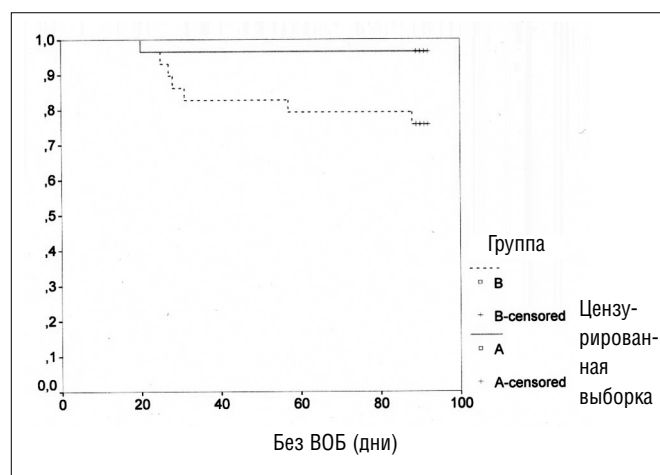


Рисунок 2. Анализ выживаемости: интересующее событие - появление VOD у пациентов с индивидуализированными режимами дозирования бусульфана (А) и пациентов контрольной группы (В)

ентов со стоматитом ($4,8 \pm 1,05$ мг·ч/л, размах 3,5 – 6,19 мг·ч/л) и у пациентов без стоматита ($4,67 \pm 1,03$ мг·ч/л, размах 3,39 – 6,2 мг·ч/л). У пациентов обеих групп проявления токсичности бусульфана в форме припадков и легочных осложнений не наблюдались.

Результаты приживления трансплантата показаны в таблицах 5 и 6. Из 29 пациентов группы А у одного пациента смерть наступила до выздоровления по анализам крови (по гематологическому контролю), у 26 было достигнуто полное приживление и у двух наблюдался смешанный химеризм. Частота полного приживления в течение 3 месяцев после операции была значительно выше в группе А по сравнению с группой Б, в то время, как различий не было обнаружено за 1 год наб-

людений. Частота инцидентов появления смешанного химеризма была эквивалентна в обеих группах. У всех пациентов группы А трансплантат нормально функционировал, в то время как у 12% пациентов группы Б (три пациента) наблюдалась недостаточность трансплантата (два пациента были с синдромом Хурлера и один пациент с лимфогистиоцитозом (трансплантированный от неродственного донора)). Средние значения AUC, достигаемые у пациентов с полным приживлением ($4,74 \pm 1,04$ мг·ч/л) не отличались (тест Манна-Уитни, $p=0,67$) от значений, наблюдавшихся у пациентов со смешанным химеризмом ($4,47 \pm 0,93$ мг·ч/л). Средние дозы клеток трансплантата были одинаковы в двух группах: $4,69 \pm 2,86 \times 10^8$ клеток/кг массы тела

Таблица 5

Частота появления ВОБ, стоматита и приживления трансплантата у пациентов группы А и контрольной группы Б

Наблюдаемое событие	Группа А	Группа Б	Имеющиеся данные	p (χ^2 Pearson)
ВОБ, все степени	n = 1 (3.4%)	n = 7 (24.1%)	n _А = 29 n _Б = 29	0.022
Стоматит - все степени	n = 16 (55.1%)	n = 13 (44.8%)	n _А = 29 n _Б = 29	0.431
- степень II-IV	n = 4 (13.8%)	n = 10 (34.5%)	n _А = 29 n _Б = 29	0.066
- степень III-IV	n = 1 (3.6%)	n = 3 (11.5%)	n _А = 29 n _Б = 29	0.300
Полное приживление				
- 3 месяца после ТКМ	n = 26 (92.9%)	n = 16 (64.0%)	n _А = 28 n _Б = 25	0.010
- 1год после ТКМ	n = 15 (68.0%)	n = 13 (61.9%)	n _А = 22 n _Б = 21	0.666
Смешанный химеризм				
- 3 месяца после ТКМ	n = 2 (7.1%)	n = 6 (24.0%)	n _А = 28 n _Б = 25	0.087
- 1год после ТКМ	n = 7 (31.8%)	n = 6 (28.6%)	n _А = 22 n _Б = 21	0.739
Недостаточность трансплантата 3 месяца после ТКМ	n = 0 (0.0%)	n = 3 (12.0%)	n _А = 28 n _Б = 25	0.059

реципиента в группе А против $3,01 \pm 3,71 \times 10^8$ клеток/кг массы тела реципиента в группе Б ($p=0,064$), в то время как низкие дозы клеток ($<3,5 \times 10^8$ клеток/кг) более часто использовались в группе Б (34% в группе А по сравнению с 72% в группе Б, $p=0,001$). Тем не менее, корреляция между количеством клеток и инцидентами смешанного химеризма не была выявлена в обеих группах (χ^2 тест) ни за 3-месячный период наблюдения ($p=0,377$), ни в течение года ($p=0,857$) после трансплантации. Не было обнаружено также влияния на степень смешанного химеризма (корреляция Пирсона) ни за 3-месячный период наблюдения ($p=0,173$), ни в течение года ($p=0,754$) после трансплантации. Более низкая частота приживления в группе Б может объясняться применением антитимочитарного глобулина (ATG), который получали 58,6% пациентов группы А и 62,1% пациентов группы Б (χ^2 тест, $p=0,788$) в дозе 20 мг/кг до операции.

Анализ выживаемости (интересующее событие — появление ВОБ, период наблюдения — 90 дней) (см. рис. 2) показал 96,6% в группе А по сравнению с 75,9% пациентов в группе Б (логранговый критерий, $p=0,026$). Вероятность появления ВОБ была существенно ниже ($p=0,0218$) у пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями в группе А (7,1%) по сравнению с группой Б (42,9%). Эта вероятность не различалась значимо у пациентов с врожденной патологией (0% в группе А по сравнению с 6,7% в группе Б, $p>0,05$).

Выживаемость была 82,8% в группе А против 65,5% в группе Б, прогнозируемое медианное значение было ниже в группе А (1,6 лет в группе А против 2 лет в группе Б). Основной причиной ранней летальности была ВОБ. Другими причинами смерти были инфекции (в основном цитомегаловирус или пневмонии, вызываемые *Aspergillus*, а также диссеминированные аденовирусные инфекции) или острое возникновение РТПХ.

ОБСУЖДЕНИЕ

По нашим данным в этом исследовании впервые применялся байесовский подход к процедуре ТЛМ в течение 4-дневного курса бусульфана, и крайне ограниченные данные измерений концентрации бусульфана использовались для последовательной корректировки терапии. Большинство ранее выполненных ФК исследований основывались на оценках AUC только после получения первой дозы или после первой и тринадцатой доз [14, 25-27]. Дизайн нашего исследования предполагает оценку значений AUC после первой дозы каждого из 4 дней терапии. Это стало возможным благодаря байесовским методам, позволяющим идентифицировать индивидуальные значения ФК параметров по 1-3 измеренным уровням препарата в крови пациента. Этот метод дает возможность достаточно надежно вычислять значения AUC на основе уровней бусульфана в крови, измеренных с помощью точной методики.

Наша основная цель была оценить значение тестовой дозы бусульфана для такой индивидуализации. Полученные результаты свидетельствуют, что тестовая доза является полезной для прогноза индивидуальной фармакокинетики бусульфана в течение 4 дней терапии. Однако, хотя точность прогноза концентраций на основе тестовой дозы была достаточно хорошей для большинства пациентов, индивидуальная фармакокинетика бусульфана у некоторых пациентов отличалась от прогнозируемой на основе тестовой дозы. Поэтому корректировку режима дозирования бусульфана в течение 4 дней терапии нельзя проводить только на основе измерений концентрации, выполненных после получения тестовой дозы. Тестовая доза может применяться для индивидуализации начального режима дозирования бусульфана, но в дальнейшем необходима последовательная корректировка режима дозирования

Таблица 6

Результаты оценки химеризма в двух группах

№ пациента (пол)	Приживление 3 месяца после ТКМ	Приживление 1 год после ТКМ
1	2	3
1 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
2 (М) - Группа А	100% D - 0% R	dcd
3 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
4 (М) - Группа А	100% D - 0% R	50% D - 50% R
5 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	50% D - 50% R
6 (Ж) - Группа А	50% D - 50% R	50% D - 50% R
7 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
8 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R *
9 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
10 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R *
11 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
12 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
13 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
14 (М) - Группа А	100% D - 0% R	dcd
15 (М) - Группа А	50% D - 50% R	60% D - 40% R
16 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
17 (М) - Группа А	100% D - 0% R	90% D - 10% R
18 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
19 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
20 (М) - Группа А	dcd	dcd
21 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
22 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
23 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
24 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R *
25 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R *
26 (М) - Группа А	100% D - 0% R	10% D - 90% R
27 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
28 (М) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R
29 (Ж) - Группа А	100% D - 0% R	100% D - 0% R

D: донор; R: реципиент; dcd: умерший.

* Результаты через 6 месяцев после ТКМ (результаты через 1 год после операции были недоступны)

1	2	3
1' (Ж) - Группа Б	80% D - 20% R	75% D - 25% R
2' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
3' (Ж) - Группа Б	0% D - 100% R	0% D - 100% R
4' (М) - Группа Б	94% D - 6% R	98% D - 2% R
5' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	98% D - 2% R
6' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	dcd
7' (Ж) - Группа Б	0% D - 100% R	0% D - 100% R
8' (М) - Группа Б	80% D - 20% R	20% D - 80% R
9' (М) - Группа Б	95% D - 15% R	75% D - 25% R
10' (М) - Группа Б	0% D - 100% R	0% D - 100% R
11' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
12' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
13' (М) - Группа Б	70% D - 25% R	40% D - 60% R
14' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
15' (Ж) - Группа Б	dcd	dcd
16' (М) - Группа Б	dcd	dcd
17' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	dcd
18' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
19' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	dcd
20' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
21' (Ж) - Группа Б	dcd	dcd
22' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
23' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	dcd
24' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
25' (Ж) - Группа Б	93% D - 7% R	100% D - 0% R
26' (М) - Группа Б	dcd	dcd
27' (М) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
28' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R
29' (Ж) - Группа Б	100% D - 0% R	100% D - 0% R

каждому пациенту по данным ТЛМ, получаемым каждый день терапии. Такая методика позволяет учитывать возможную интраиндивидуальную ФК вариабельность [28].

Большинство пациентов в результате индивидуализации получало более низкие суммарные дозы бусульфана, чем обычно рекомендуемые. Однако у пациентов не наблюдалось ни отторжения, ни недостаточности трансплантата, частота полного приживления была выше, чем у пациентов, получавших стандартные режимы дозирования. ВОБ наблюдалась значительно реже. Это можно объяснить постоянным

значением АУС бусульфана, поддерживаемым в течение всего 4-дневного периода, что стало возможным из-за ежедневного проведения процедуры ТЛМ и последовательной корректировки дозирования. Действительно, у единственного пациента с ВОБ наблюдалась значительная вариация индивидуальных значений АУС ото дня ко дню (данные не представлены в статье). Этот пациент также получал внутривенно высокие дозы иммуноглобулина, который, как было недавно показано [29], увеличивает риск ВОБ. Хотя дозы были низкими, число появлений смешанного химеризма не было выше обычного. Мы не можем объяс-

нить, почему у некоторых пациентов обеих групп смешанный химеризм проявляется через год. Однако все их трансплантаты продолжали функционировать и не было изменений в их клиническом состоянии. Частота рецидивов не изучалась, поскольку считается [30], что смешанный химеризм оказывает ограниченное влияние на риск возникновения рецидивов у пациентов с острым лимфоцитарным и миелоцитарным лейкозами. Кроме того, ретроспективного анализа клинических данных нескольких пациентов недостаточно для каких-либо весомых заключений.

В исследовании не было установлено соотношения между значениями AUC и появлением стоматита, который может также вызываться и другими препаратами, получаемыми пациентами в период подготовки к операции по ТКМ (например, этопосидом или циклофосфамидом). Исследование подтвердило, что терапевтические значения AUC бусульфана находятся в диапазоне 3,5 – 5 мг·ч/л. Однако необходимо обратить внимание, что эти значения AUC зависят от используемой методики измерений концентрации бусульфана, ее точности и воспроизводимости.

Индивидуализация режимов дозирования бусульфана улучшила клинические результаты в раннем послеоперационном периоде, как было показано, снизив вероятность возникновения ВОБ и улучшив 90-дневную выживаемость. Смертность, связанная с инфекциями, по-прежнему вызывает озабоченность.

В заключение можно сказать, что это исследование показало, как клинические результаты могут быть улучшены с помощью адаптивной индивидуализации режимов дозирования бусульфана для достижения терапевтической цели максимально точно. Ежедневный мониторинг уровней бусульфана в крови пациентов и байесовское управление с обратной связью позволяют быть уверенным, что индивидуальные значения AUC бусульфана не варьируются значительно от дня ко дню из-за интраиндивидуальных различий в фармакокинетике. Эта методика основывается на популяционном моделировании и байесовских оценках индивидуальных значений ФК параметров по нескольким имеющимся измерениям концентрации бусульфана в крови пациента.

REFERENCES

1. Parkman R, Rapoport JM, Hellman S, Lipton J, et al. Busulfan and total body irradiation as anti-haemopoietic stem cell agents in the preparation of patients with congenital bone marrow disorders for allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1984; 64:852-7.
2. Styler MJ, Crilley P, Biggs J, Moul J, et al. Hepatic dysfunction following busulfan and cyclophosphamide myeloablation: a retrospective, multicenter analysis. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18 :171-6.
3. Morris JD, Harris RE, Hashmi R, Sambrano JE, et al. Antithrombin III for the treatment of chemotherapy induced organ dysfunction following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20:871-8.
4. Hartman AR, Williams SF, Dillon JJ. Survival, disease-free survival and adverse effects of conditioning for allogeneic bone marrow transplantation with busulfan/cyclophosphamide versus total body irradiation: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22:439-43.
5. Comcovich SA, Spitzer TR, Tsunoda SM. Ursodiol to prevent hepatic veno-occlusive disease. *Ann Pharmacother* 1997;31:1249-52.
6. Rozman C, Carreras E, Qian C, Gale RP, et al. Risk factors for hepatic veno-occlusive disease following HLA-identical sibling bone marrow transplants for leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17:75-80.
7. Baglin TP. Venous occlusive disease of the liver complicating bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13:1-4.
8. Slattery JT, Sanders JE, Buckner CD, Schaffer RL, et al. Graft-rejection and toxicity following bone marrow transplantation in relation to busulfan pharmacokinetics. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16 :31-42.
9. Dix SP, Wingard JR, Mullins RE, Jerkunica I, et al. Association of busulfan area under the curve with veno-occlusive disease following BMT. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17 :225-230.
10. Hassan M, Fasth A, Gerritsen B, Haraldsson A, et al. Busulphan kinetics and limited sampling model in children with leukemia and inherited disorders. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18 :843-850.
11. Chattergoon DS, Saunders EF, Klein J, Calderwood S, et al. An improved limited sampling method for individualised busulphan dosing in bone marrow transplantation in children. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20 :347-354.
12. Slattery JT, Risler LJ. Therapeutic monitoring of busulfan in hematopoietic stem cell transplantation. *Ther Drug Monit* 1998; 20 :543-54.
13. Grochow LB, Jones RJ, Brundrett RB. Pharmacokinetics of busulfan: correlation with veno-occlusive disease in patients undergoing bone marrow transplantation. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 25 :55-61.
14. Tran HT, Madden T, Petropoulos D, Worth LL, et al. Individualizing high-dose oral busulfan: prospective dose adjustment in a pediatric population undergoing allogeneic stem cell transplantation for advanced hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26 :463-470.
15. Hassan M, Oberg G, Bekassy AN, Aschan J, et al. Pharmacokinetics of high-dose busulphan in relation to age and chronopharmacology. *Cancer Chemother Pharmacol* 1991; 28 :130-134.
16. Gibbs JP, Murray G, Risler L, Chien JY, et al. Age-dependent tetrahydrothiophenium ion formation in young children and adults receiving high-dose busulfan. *Cancer Res* 1996; 56 :3678-3681.
17. Vassal G, Deroussent A, Chailine D, Hartmann O, et al. Is 600 mg/m² the appropriate dosage of busulfan in children undergoing bone marrow transplantation? *Blood* 1992; 79 :2475-2479.
18. Jelliffe RW, Schumitzky A, Van Guilder M, Liu M, et al. Individualizing drug dosage regimens: roles of population and pharmacodynamic models, bayesian fitting, and adaptive control. *Ther Drug Monit* 1993; 15: 380-393.
19. Bleyzac N, Barou P, Aulagner G. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic method for busulfan assay in plasma. *J Chromatogr Biomed Appl* 2000; 742 :427-432.
20. D'Argenio DZ. Optimal sampling times for pharmacokinetic experiments. *J. Pharmacokin Biopharm* 1981; 9: 739-756.
21. Tod M, Mentre F, Merle Y, Mallet A. Robust design for the estimation on hyperparameters in population pharmacokinetics. *J. Pharmacokin Biopharm* 1998; 26 :689-711.
22. Laboratory of Applied Pharmacokinetics. (1995) USC*Pack P.C. Collection Clinical Research Programs. Los Angeles. University of Southern California. School of Medicine. version 10.7.
23. Bleyzac N, Barou P, Massenavette B, Contamin B, et al. Assessment of acyclovir intraindividual pharmacokinetic variability during continuous hemofiltration, continuous hemodiafiltration and continuous hemodialysis. *Ther Drug Monit.*, 1999, 21, 520-525.
24. Jeffreys AJ, Wilson W, Neimann R, Keyte J. Amplification of human minisatellites by the PCR: toward fingerprinting of single cells. *Nucl Ac Res* 1988; 16:10953.
25. Baker KS, Bostrom B, DeFor T, Ramsay NKC, et al. Busulfan pharmacokinetics do not predict relapse in acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26 :607-614.
26. Li CK, Yuen PMP, Wong R, Pang CP et al. Busulphan level and early mortality in thalassemia patients after BMT. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23 :307-310.
27. Bolinger AM, Zangwill AB, Slattery JT, Glidden D et al. An evaluation of engraftment, toxicity and busulfan concentration in children receiving bone marrow transplantation for leukemia or genetic disease. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25 :925-930.
28. Magron P, Bleyzac N, Souillet G, Maire P, et al. Control of intra and inter-patient variability by bayesian forecasting of busulfan dosage regimens in pediatric BMT. *Pediatr. Res.*, 1999, 45, 769 (abstr.).
29. Cordonnier C, Chevret S, Legrand M, Bassompierre F, et al. IVIG prophylaxis in allogeneic sibling SCT: Preliminary results of a randomized dose-effect, placebo-controlled, double-blind, multicenter trial. 27th Annual Meeting of European Group for Blood and Marrow Transplantation, Maastricht, 2001.
30. Choi SJ, Lee KH, Lee JH, Kim S, et al. Prognostic value of hematopoietic chimerism in patients with acute leukemia after allogeneic bone marrow transplantation: a prospective study. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 327-332.