

Токсичне ураження печінки, індуковане хіміотерапією у пацієнтів із гострими лейкозами

Є. О. Борисенко

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ
КЗ КОР «Київський обласний онкологічний диспансер»

У статті представлені сучасні теоретичні та практичні аспекти токсичного ураження печінки у пацієнтів із гострими лейкозами (ГЛ) під час проведення хіміотерапії. Слід пам'ятати про токсичність хіміотерапії з метою її запобігання та адекватної терапії, оскільки вона несприятливо впливає на якість життя пацієнтів як під час лікування, так і при подальшому спостереженні, призводить до необхідності зниження доз цитостатиків, збільшення інтервалів між курсами та припинення протипухлинного лікування, може загрожувати життю пацієнта та значно збільшує вартість лікування. У статті викладено клінічні і лабораторні показники ушкодження гепатоцитів у пацієнтів із ГЛ.

Ключові слова: гострі лейкози, лікування, хіміотерапія, гепатотоксичність.

Гострі лейкози (ГЛ) – гетерогенна група клональних пухлинних захворювань кровотворної тканини, що характеризується неконтрольованою проліферацією, порушенням диференціювання і накопиченням у кістковому мозку і периферійній крові незрілих гемопоетичних клітин [5, 8].

У світі захворюваність на ГЛ становить у середньому 3–5 випадків на 100 тис. населення, при цьому приблизне співвідношення гострих мієлоїдних і лімфобластичних лейкозів складає 6:1 [3, 5, 8]. За даними МОЗ України (2015), починаючи з 2009 року, захворюваність на всі види ГЛ у нашій державі коливається у межах 2,36–2,84 на 100 тис. дорослого населення, тому не викликає сумніву важливість даної проблеми для сучасної медицини [10]. Сучасні протоколи лікування ГЛ, що включають цитостатики, гормональні препарати, методи трансплантації, застосування генної, імунної терапії, призвели до збільшення тривалості життя та подовження безрецидивних періодів хвороби, але проблема, у цілому, далека від остаточного вирішення [3, 5–9].

Підвищення ефективності лікування гострих лейкозів досягається завдяки застосуванню схем високодозової хіміотерапії та трансплантації стовбурових клітин. Проте це супроводжується розвитком небезпечних для життя ускладнень [5–7]. Їхній спектр багатогранний, але найважчими вважають інфекційні ускладнення, сепсис, септичний шок, геморагічний синдром, інтоксикаційний синдром, і як наслідок – дисфункції органів [1, 2, 6, 8, 14]. Синдром поліорганної недостатності створює серйозні проблеми для онкогематологічних хворих [1–3, 5, 13].

Застосування протипухлинних препаратів забезпечує певною мірою знищення пухлинних клітин, але одночасно пошкоджує і нормальні клітини, що швидко діляться. Це, наперед, клітини кісткового мозку, слизова оболонка порожнини рота і травного тракту, волоссяні фолікули. Виникнення побічних ефектів при проведенні хіміотерапії у гематологічних і онкологічних хворих пов'язане із специфікою протипухлинного ефекту препаратів, їхньою низькою вибірковістю, а також необхідністю підтримувати досить високу терапевтичну дозу. Вираженість побічних ефектів зале-

жить від типу, загальної та сумарної дози препарату, а також тривалості проведення хіміотерапії [3, 5–9]. Тяжким ускладненням при проведенні хіміотерапії вважають цитотоксичне ураження печінки [3, 5, 8, 9].

На думку різних авторів гепатотоксичність насправді розвивається значно частіше, ніж свідчить офіційна медична статистика, тому що печінка є одним із ключових органів біологічного трансформування цитостатичних препаратів [3, 9, 11, 12]. Відомо, що медикаментозне ураження печінки становить близько 10% усіх ускладнень, що можуть виникати при проведенні інтенсивного лікування цитостатичними препаратами [7]. Але на сьогодні усталених даних щодо цілісної картини виникнення і проявів гепатотоксичності при ГЛ у доступній літературі не виявлено.

Мета дослідження: встановити частоту виникнення гепатотоксичності під час застосування стандартних схем хіміотерапії при лікуванні пацієнтів із ГЛ, визначити клінічну значимість змін основних біохімічних у сироватці крові у процесі інтенсивної хіміотерапії для покращання ефективності лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 75 хворих (жінок – 32, чоловіків – 43) на ГЛ віком від 20 до 71 року (середній вік – 42 роки). Розподіл хворих за нозологічними формами був наступним: з гострим мієлобластним лейкозом (ГМЛ) – 45 осіб, а гострим лімфобластним лейкозом (ГЛЛ) – 27 осіб. Контрольну групу склали 35 первинних донорів.

Критерії включення до групи дослідження:

- верифіковане захворювання на ГЛ;
- факт призначення інтенсивної хіміотерапії;
- можливий розвиток нейтропенії та інфекційних ускладнень.

Усім пацієнтам проводили загальноклінічне і лабораторне обстеження. Для оцінювання ступеня і глибини пошкодження гепатоцитів у пацієнтів із ГЛ проведено біохімічні дослідження параметрів, що відображають цілісність клітини, екскреторну активність і явища холестазу до початку призначення лікування і після завершення програм хіміотерапії (аланінамінотрансфераза – АлАТ, аспартатамінотрансфераза – АсАТ, гамма-ГТП, лужна фосфатаза – ЛФ, білірубін).

Для оцінювання ступеня ендогенної інтоксикації у пацієнтів визначали вміст молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові за методикою Н.І. Габрієляна, В.І. Ліпатової (1984) [4]. Результати дослідження вмісту МСМ у сироватці крові обстежених виражали в умовних одиницях (од) оптичної щільності, що визначали цілими значеннями в 1 мл сироватки крові.

На момент встановлення діагнозу у всіх пацієнтів проведено дослідження на наявність вірусних гепатитів В і С за допомогою імуноферментного аналізу. Пацієнтів з антигеном гепатиту В і антитілами до вірусу гепатиту С виключали із дослідження. Пацієнти були також обстежені за допо-

Динаміка показників МСМ в обстежених пацієнтів, n=75

Показник, одиниця виміру	До лікування	3-5-а доба	10-19-а доба	Завершення лікування	p
МСМ, ОД	0,24±0,0082	0,36±0,001	0,691±0,002	0,321 0,002	0,001

Примітка: p – критерій Фрідмана для повторних порівнянь.

Варіанти синдрому холестазу у хворих на ГЛ до початку призначення терапії

Показник	Варіант холестазу, n=30			
	Без жовтяниці, n=15	Із жовтяницею, n=5	Без жовтяниці з пошкодженням гепатоцитів, n=7	Із жовтяницею без пошкодження гепатоцитів, n=3
АсАТ, ОД/л	24,5±0,4	22,5±0,4	57,7±0,2	52,1±0,1
АлАТ, ОД/л	17,3±0,1	14,5±0,1	67,3±0,2	45,3±0,1
ЛФ, ОД/л	35,4±0,2	65,2±0,1	97,1±0,1	78,8±0,1
Гамма-ГТП, ОД/л	67,9±0,2	27,3±0,1	65,6±0,4	67,3±0,3
Білірубін прямий, мкмоль/л	2,3±0,1	12,7±0,1	3,3±0,1	11,4±0,1
Білірубін непрямої, мкмоль/л	15,3±0,2	17,1±0,1	17,4±0,2	18,8±0,1

могою ультразвукової ехографії печінки, а в разі необхідності – комп'ютерної томографії.

Хіміотерапія, що застосовувалась хворими згідно протоколів лікування [3, 4], відноситься до IV класу гематологічної токсичності CTC NCIC та призводила до виникнення глибокої нейтропенії (IV клас за класифікацією ВООЗ). Під час хіміотерапії усі хворі отримували стандартну підтримувальну терапію кристалоїдами щодобово об'ємом 2–3 л/м² поверхні тіла із включенням до складу гідрокарбонату натрію 1,5–2 ммоль/кг/добу та хлориду калію – 2–4 ммоль/кг/добу. Анемію коригували замісною терапією для підтримання гематокриту не нижче 25–30%, тромбоцитопенію – замісною терапією концентратом тромбоцитів до безпечного рівня. У разі виникнення розладів коагуляційного гемостазу призначали замісну терапію трансфузіями свіжозамороженої плазми. Корекцію електролітних розладів у постінтоксикаційний період проводили із застосуванням загальноприйнятих методик розрахунків. Добова доза хлориду калію в окремих випадках досягала 300 ммоль. За неможливості вживання їжі через рот внаслідок тяжкого мукозиту і ентеропатії призначали парентеральне живлення. У випадках дихальної недостатності проводили заходи респіраторної підтримки, починаючи від збільшення концентрації кисню у повітрі, що вдихалося, закінчуючи проведенням відповідних режимів штучної вентиляції легень.

Тяжкість стану оцінювали за шкалою APACHE II (Acute physiology and chronic disease evaluation II), органні дисфункції за шкалою SOFA (Sequential organ failure assessment). Розрахунок балів шкали APACHE II проводили за клінічними і лабораторними критеріями. Клінічні фактори включали частоту серцевих скорочень, дихання, величини артеріального тиску, температури тіла, оцінку неврологічного статусу за шкалою Глазго. Із лабораторних параметрів оцінювали показники гематокриту, кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, концентрацію креатиніну і білірубину у сироватці крові, проводили моніторингування кислотно-лужної рівноваги та оксигенації крові.

Усі показники, які ми контролювали і які були необхідні для розрахунку балів за шкалами APACHE II і SOFA, вивчали до призначення хіміотерапії та в динаміці лікування – на 3–5-у добу після призначення хіміотерапії, у період очікуваного виникнення нейтропенії (10–19-а доба від початку хіміотерапії) і в заключній стадії лікування. Паралельно проводили наявність або відсутність синдрому системної за-

пальної відповіді (ССЗВ) за критеріями ACCP/SCCM, що були прийняті у 1992 році.

Отримані дані аналізували за допомогою статистичної програми Statistica 6.0 від Statsoft. Статистичну достовірність оцінювали за допомогою непараметричних методів Манна–Уїтні і Уїлкінсона (для залежних порівнянь), критерію хи-квадрат (χ^2). При порівнянні застосовували непараметричний тест Крускала–Уолліса. Повторні вимірювання оцінювали за критерієм Фрідмана. Для кореляційного аналізу використовували коефіцієнт Спірмена (r_s).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

До призначення лікування і в процесі проведення хіміотерапії відзначали значне підвищення сироваткового рівня МСМ порівняно із значеннями у здорових ($p < 0,001$). Результати досліджень представлені у табл. 1.

Як видно із табл. 1, до початку призначення лікування вміст МСМ у сироватці крові обстежених складав $0,24 \pm 0,0082$ ОД, у той самий час як значення аналогічного показника у контрольній групі становили $0,21 \pm 0,0032$ ОД. Слід зазначити, що на даній стадії у 30 (40%) пацієнтів відзначали незначне підвищення показника вмісту МСМ у сироватці крові, що достовірно вище, ніж у контролі ($p > 0,01$). Кореляційний аналіз рівня МСМ з показниками кислотно-лужної рівноваги, водно-електролітного балансу, змінами гемограми, біохімічних показників не виявив статистично достовірної залежності ($p < 0,05$) для кожної пари показників. Під час аналізу причин підвищення рівня МСМ установлено, що у хворих із симптомами пропасниці (температура тіла понад $38,5^\circ\text{C}$) рівень МСМ був достовірно вищим, ніж у хворих із нормальною температурою тіла ($p < 0,05$). Не виявлено достовірних відмінностей показника вмісту МСМ у сироватці крові між хворими на мієлобластні і лімфобластні форми ГЛ ($p > 0,05$).

Найвиразніші зміни показника вмісту МСМ у сироватці крові виявили у хворих у період розвитку нейтропенії. Саме у цей період реєстрували найвиразніші явища панцитопенії, значною мірою спостерігали інфекційні ускладнення, порушення у системі гемостазу.

Дані щодо біохімічних показників в обстежених пацієнтів, у яких були виявлені зміни, що характеризують різні варіанти синдрому холестазу до початку призначення лікування наведені у табл. 2.

Варіанти синдрому холестазу у хворих на ГЛ після проведення хіміотерапії

Показник	Варіант холестазу, n=30			
	Без жовтяниці, n=3	Із жовтяницею, n=7	Без жовтяниці з пошкодженням гепатоцитів, n=12	Із жовтяницею без пошкодження гепатоцитів, n=8
АсАТ, ОД/л	21,6±0,3	22,7±0,3	97,3±0,4	44,8±0,4
АлАТ, ОД/л	15,8±0,1	15,3±0,2	102,1±0,3	55,9±0,3
ЛФ, ОД/л	39,4±0,3	67,2±0,4	86,5±0,4	74,5±0,2
Гамма-ГТП, ОД/л	67,5±0,2	27,9±0,2	74,1±0,2	61,1±0,3
Білірубін прямий, мкмоль/л	2,4±0,1	14,5±0,1	2,3±0,1	16,8±0,2
Білірубін непрямий, мкмоль/л	14,9±0,2	16,9±0,1	17,5±0,2	17,8±0,1

Як видно із наведених у табл. 2 даних, у 15 пацієнтів із ГЛ на підставі підвищення гамма-ГТП (67,9±0,2 ОД/л) діагностували наявність холестазу без жовтяниці та пошкодження гепатоцитів, у 5 пацієнтів – білірубінемію за рахунок прямої фракції і підвищення рівня ЛФ, що дало підставу для виявлення холестазу із жовтяницею. Холестаз без жовтяниці, але з ознаками пошкодження гепатоцитів виявили у 7 пацієнтів, холестаз як із жовтяницею, так і пошкодженням гепатоцитів – у 3 хворих. У групі контролю (n=35) досліджувані показники були наступними: білірубін прямий – 1,2±0,01 мкмоль/л; білірубін непрямий – 12,1±0,2 мкмоль/л; АлАТ – 13,2±0,2 ОД/л; АсАТ – 15,7±0,3 ОД/л; ЛФ – 22,8±0,3 ОД/л; гамма-ГТП – 23,9±0,4 ОД/л.

Дані щодо біохімічних показників в обстежених пацієнтів із ГЛ після проведення стандартних схем хіміотерапії, в яких до початку призначення лікування були виявлені зміни, що характеризують різні варіанти синдрому холестазу, наведені у табл. 3.

Як видно із наведених у табл. 3 даних, після закінчення стандартних схем хіміотерапії, в обстежених пацієнтів виявлено підвищення рівня трансаміназ та посилення ознак холестазу. Очевидно, що в даний період відбуваються значущі функціональні порушення печінки – гіперферментемія, гіпербілірубінемія, зміна варіантів холестазу в бік його посилення. Не виявлено достовірних відмінностей показників вмісту АлАТ, АсАТ, гамма-ГТП, ЛФ, білірубину у сироватці крові між хворими на мієлобластні і лімфобластні форми ГЛ (p>0,05).

Наразі відомі наступні побічні ефекти хіміотерапії з боку травного тракту: ураження печінки, стоматит, езофагіт, гастрит, ентероколіт, нудота, анорексія.

Розрізняють п'ять ступенів інтенсивності побічної дії:

0 – відсутність змін у самопочутті хворих та лабораторних даних;

1 – мінімальні зміни, які не впливають на загальну активність хворого; лабораторні показники змінені незначно і не потребують корекції;

2 – помірні зміни, що порушують нормальну активність і життєдіяльність хворого і викликають помітні зміни лабораторних даних, що потребують корекції;

3 – різкі порушення, що потребують активного симптоматичного лікування, відтермінування або припинення хіміотерапії;

4 – небезпечна для життя; потребує негайного припинення хіміотерапії.

Ураження печінки, що виникає у результаті вживання медикаментів, є однією з самих актуальних проблем фармакотерапії. Враховуючи роль печінки у метаболізмі хімічних речовин, можна стверджувати, що не існує ліків, які за певних умов не спричинюють ураження печінки. Численні відомості про гепатотоксичну дію багатьох лікарських препаратів, насамперед, цитостатиків, дозволяють зробити висновок, що медикаментозне ураження печінки є однією з найважливіших проблем в

онкогематологічній клініці при проведенні хіміотерапії. Препарати протипухлинної хіміотерапії займають пріоритетні позиції за частотою і важкістю гепатотоксичних реакцій, які викликають. Хоча всі лікарі обізнані щодо можливості розвитку гепатотоксичних реакцій на різноманітні препарати, у клінічній практиці даний діагноз формується не виправдано рідко. Статистика медикаментозних гепатитів на сьогодні вивчена недостатньо. Це значною мірою, зумовлено тим, що не просто відрізнити симптоми власне захворювання від побічних дій лікування. За даними літератури, частота медикаментозних гепатитів складає від 1% до 28% від усіх побічних дій, пов'язаних з медикаментозною терапією [3, 5, 9]. Побічні дії лікарських засобів виступають у ролі причинного фактора жовтяниці у 2–5% госпіталізованих пацієнтів [8].

ВИСНОВКИ

Результати проведеного дослідження свідчать, що проблема виникнення побічних реакцій у разі проведення хіміотерапії пацієнтам із гострим лейкозом (ГЛ), зокрема, розвитку токсичного ураження печінки є актуальною.

Різні варіанти холестатичного синдрому виявляють у 40% пацієнтів із ГЛ до призначення хіміотерапевтичних засобів, а після завершення лікування кількість пацієнтів із порушеннями холестатичної функції збільшується.

Під час проведення хіміотерапії метою лікаря має бути зменшення токсичної дії на організм хіміотерапевтичних препаратів. Дослідження у цьому напрямку можуть не тільки розширити кордони толерантності організму до специфічних методів лікування, підвищити ефективність вже існуючих методів хіміотерапії, а й дозволять при застосуванні гепатопротекторів підвищити разові та добові дози хіміопрепаратів з метою подальшого підвищення ефективності лікування онкогематологічних хворих без розвитку побічних ефектів.

Токсическое поражение печени, индуцированное химиотерапией у пациентов с острыми лейкозами Е.А. Борисенко

В статье представлены современные теоретические и практические аспекты токсического поражения печени у пациентов с острыми лейкозами (ОЛ) при проведении химиотерапии. Токсичность химиотерапии необходимо учитывать с целью ее предупреждения и адекватной терапии, поскольку она неблагоприятно влияет на качество жизни пациентов как во время лечения, так и при последующем наблюдении, приводит к необходимости снижения доз цитостатиков, увеличению интервалов между курсами и остановке противопухольного лечения, может угрожать жизни пациентов, значительно увеличивать стоимость лечения. Изложены клинические и лабораторные показатели повреждения гепатоцитов у пациентов с ОЛ.
Ключевые слова: острый лейкоз, лечение, химиотерапия, гепатотоксичность.

Hepatotoxicity in patients with acute leucosis induced by chemotherapy

E.A. Borysenko

The paper presents modern theoretical and practical aspects of toxic liver damage in patients with acute leucosis during chemotherapy. Toxicity of chemotherapy should be considered with a view to the pre-

vention and adequate treatment, as it adversely affect the quality of life patients both during treatment and at follow-up, makes it necessary to reduce the dose of cytotoxic drugs, increase the intervals between cycles and stop acute leucosis treatment, can by life-threatening, significantly increases the cost of treatment. Presented clinical and laboratory parameters of hepatocyte damage in patients with acute leucosis.

Key words: acute leucosis, treatment, chemotherapy, hepatotoxicity.

Сведения об авторе

Борисенко Евгения Александровна – Кафедра гематологии и трансфузиологии Национальной медицинской академии последиplomного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины Киевского областного онкологического диспансера, 04112, г. Київ, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (044) 483-16-65

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Borysenko E. O., Gartovskaja I. R., Vydoborets S. V. 2015. Seredni molekuly jak odyn iz pokaznykiv metabolichnoji intoksykaciji u hvoryh na gostri lejkemiji [Middle mass molecules as one of indicators of metabolic intoxication in patients with acute leucosis]. *Gematologija i perelyvannja krvi.* – Vol. 38, p. 42–77.
2. Borysenko E. O., Gartovskaja I. R., Vydoborets S. V. 2015. Kompleksnoje biohimeskoje issledovanie biogennyh aminov i heparina v plasme krvi bol'nyh ostrymi lejkozami v prozesse intensivnoj himioterapii [The complex biochemical study of the content of biogenic amines and heparin in blood plasma in patients with acute leucosis during intensive chemotherapy]. *Gematologija. Transfuziologija. Vostochnaja Evropa*, vol. 2, no. 1, p. 39–46.
3. *Clinical oncohematology. A manual for the physician 2007.* Ed. by M. A. Volkova. 2nd edition, updated. Moscow: Meditsina Publishers. 1120 p.
4. Gabrieljan N. I., Lipatova V. I. (1984) Opyt ispolzovanija pokazatelej srednich molekul v krvi dlja diagnostiki nefrologicheskich zabojevanij u detej [Application of the index of median molecules in the blood to diagnosis of nephrologic diseases in children]. *Laboratornoe delo*, no. 3, pp. 138–140.
5. *Gematologija: nazional'noe rukovodstvo.* 2015. Ed. by O. A. Rukavitsyn. Moscow: GEOTAR-Media. 776 p.
6. Gorjainova N. V., Basova O. V., Tretyak N. M., Anochina M. Yu., Koval A. I. 2015. Jakist' zhittja hvoryh na gostru mieloidnu lejkemiju pry zastosuvanni riznyh program chimioterapiji [Quality of live of acute mieloid leukemia using dsfferent chemotherapy programs]. *Gematologija i perelyvannja krvi.* – Vol. 38, pp. 11–125.
7. Karnabeda O.A., Tkach S.M., Perederiy V.G., Chechuga J. V. 2013. Toksichne urazhennja pechinki u pazientiv z onkologichnoju patologiejju (diagnostika, likuvannja) [Hepatotoxicity in patients with cancer pathology (diagnosis, treatment)]. *Klinicheskaja onkologija*, no.1 (9), pp. 125–131.
8. *Leukemia.* 2005.Ed. by J. M . Burke. Boston-Toronto-London-Singapore: Jones and Bartlett Publ., 208 p.
9. *Manual of clinical oncology.* 2004. Ed. by D. A. Casciato. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokio: Lippincott Williams & Wilkins A Wolters Kluwer Company. – 1039 p.
10. Novak V. L., Masljak Z. V., Buzerak N. F., Berg L. E., Primak S. V., Adzigitova L. V. et al. (2015) Pokaznyky dijial'nosti gematologichnoji sluzby Ukrainy v 2014 rozi. Lviv, 44 p.
11. Sivak L.A., Gubareva G.A., Lyalkin S.A., Maidanevich N.M., Klimanov M.Y., Aleksik O.M., Askolskyy A.V. 2014. Efektivnist' zastosuvannja aljorytmiv terapij suprovodu z urahuvannjam faktoriv prognozu toksychnosti chimioterapij u hvoryh iz zlojaksnyh puchlynamy grudnoj zalozy [Effectiveness of support therapy algoritms based on chemotherapy toxicity prognostic factors in patients with breast cancer]. *Klinicheskaja onkologija*, no. 1 (13), pp. 76–81.
12. Sivak L.A., Gubareva G.A., Lyalkin S.A., Maidanevich N.M., Aleksik O.M., Filonenko K.S., Klimanov M.Y., Askolskyy A.V., Kasap N.V., Ulyanchenko K.O. 2014. Likuvannja ta profilaktyka flebitiv, indukovanah chimioterapijeju u hvoryh na rak grudnoj zalozy [Treatment and prevention of toxic phlebitis induced by chemotherapy in patients with breast cancer]. *Klinicheskaja onkologija*, no. 1 (9), pp. 122–124.
13. Vydoborets S., Borysenko Ye. (2012) Kompleksne biohimesne doslidjennja vmistu molochnoi i pirovinogradnoi kislot u plasmii krvi hvoryh na gostri lejkozy v procesi intensivnoj chimioterapii [The complex biochemical study of the content lactic and pyruvic acids in blood plasma in patients with acute leucosis during intensive chemotherapy]. *Gematologija i perelyvannja krvi*, no. 36, pp. 67–75.
14. Vydoborets S., Kucher E. (2015) [The treatment strategy of febrile neutropenia in patients with oncohematological pathology]. *Gematologija. Transfuziologija. Vostochnaja Evropa*, no. 1 (01), pp. 150–156.

Статья поступила в редакцию 24.11.2016