

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", доцента Пересыпкиной Анны Александровны на диссертационную работу Аникеева Ивана Сергеевича на тему «Оптимизация технологий терапевтического лекарственного мониторинга с использованием метода «высушенной капли», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) является важным инструментом повышения эффективности и безопасности фармакотерапии, использование которого во многих клинических случаях вызывает ряд трудностей. Например, из-за достаточно большого забора биоматериала, которым является сыворотка крови, либо плазма, полученные с помощью стандартной венепункции. В связи с этим в последние годы всё большее внимание уделяется разработке более удобных и менее инвазивных технологий получения биоматериала, одним из которых является метод «высушенной капли крови».

Данный способ наиболее простой и минимально инвазивный процесс отбора проб с более удобным способом хранения и транспортировкой биоматериала.

Метод «высушенной капли» позволяет преодолеть ограничения стандартных способов сбора биоматериала, так как требует получения нескольких капель капиллярной крови путём пальцевого прокола с последующим нанесением их на маркированную область специальной бумаги. После полного высыхания образцы могут быть транспортированы в лабораторию для последующего анализа.

Такой способ получения биоматериала позволяет оптимизировать проведение ТЛМ, особенно препаратов с узким терапевтическим диапазоном и сделать его применение возможным в тех клинических случаях, в которых он был затруднен или неприменим.

Новизна исследования и полученных результатов диссертации

Были разработаны новые протоколы и даны практические рекомендации по подготовке биологических образцов с использованием технологии «высушенной капли», обеспечивающие достижение приемлемых валидационных характеристик для методов количественного определения с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС/МС) выбранных лекарственных препаратов.

Автором были разработаны и валидированы новые методы количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ивабрадина, ванкомицина, пиперациллина, эверолимуса с использованием «высушенной капли крови» в качестве пробоподготовки. Проанализировано влияние специфических характеристик на результаты анализов, которые характерны только для метода «высушенной капли».

Значимость для науки и практики полученных результатов

Разработанный метод количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ивабрадина с использованием метода «высушенной капли» позволит в дальнейшем успешно производить фенотипирование с использованием «ивабрадинового теста».

Разработанные протоколы взятия, хранения и анализа биообразцов позволят в дальнейшем исследователям успешно проводить ТЛМ препаратов с использованием метода «высушенной капли», так как данный метод требует малых объемов проб крови, позволяет сократить время анализа, повысить пороги определения лекарственных средств и проводить мониторинг в любых возрастных категориях, как у новорожденных, так и у пожилых людей.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Достоверность полученных результатов подтверждается произведённой полной валидацией количественных методик с использованием ВЭЖХ-МС/МС четырех лекарственных препаратов (ванкомицин, пиперациллин, эверолимус, ивабрадин) по 6-ти стандартным параметрам и трем новым, характерным только для «высушенной капли». В результатах работы представлены разработанные и апробированные протоколы взятия и хранения образцов. С помощью данных результатов продемонстрировано влияние специфических характеристик, таких как: эффект гематокрита, объёма капли, места выреза, которые характерны только для данного метода.

Влияние гематокрита было оценено на трех уровнях (0,3; 0,4; 0,5), для нижнего и верхнего концентрационного уровня. Для валидации эффекта объёма провели анализ трех (10, 40, 70 мкл) объёмов при среднем уровне гематокрита (0,4). При валидации однородности капли сравнили результаты, полученные при разных вариантах выреза, капли: из центра капли и с края. При этом каждый параметр валидации включал десятки проб.

Сформулированные в диссертации выводы подтверждены экспериментальными данными, адекватной статистической обработкой полученных данных.

Теоретическая и научно-практическая значимость

В работе представлены впервые разработанные методы количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ивабрадина с использованием «высушенной капли крови» в качестве пробоподготовки с целью последующего фенотипирования СYP3A4 с использованием «ивабрадинового теста».

Разработаны и валидированы методы количественного ВЭЖХ-МС/МС определения лекарственных препаратов с узким терапевтическим диапазоном: эверолимуса, ванкомицина, пиперециллина, используя инновационную методику пробоподготовки «высушенной капли».

Оптимизирован метод фенотипирования с помощью «ивабрадинового теста» с использованием метода «высушенной капли крови», что позволило снизить время анализа более чем в 4 раза и повысить чувствительность в 10 раз. Разработанные количественные методы определения лекарственных препаратов с использованием ВЭЖХ-МС/МС для препаратов с узким терапевтическим диапазоном позволяют сократить время анализа от 2 до 4 раз, а небольшой объем крови, в сочетании с простотой аналитической методикой позволяют

сделать этот метод применимым для ТЛМ пиперациллина, ванкомицина и эверолимуса в сложных клинических случаях.

При этом все параметры валидации соответствовали критериям приемлемости, образцы «высушенной капли крови» были стабильны в течение 14 дней при температуре 22°C и 45 °C.

Представленные преимущества позволят в дальнейшем успешно проводить фенотипирование с использованием «ивабрадинового теста» и ТЛМ для целого ряда сложных клинических случаев.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа «Оптимизация технологий терапевтического лекарственного мониторинга с использованием метода «высушенной капли» соответствует паспорту научной специальности 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология по п.6 Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека, п. 12 Разработка методологии и проведение терапевтического лекарственного мониторинга препаратов с учетом клинической эффективности и возможности проявления нежелательных реакций лекарственных средств.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основное содержание диссертационной работы отражено в 10 публикациях, 6 из которых в журналах из Перечня ВАК РФ. Публикации отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

Структура и оформление работы

Диссертационная работа Аникеева Ивана Сергеевича построена по традиционному плану и состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, а также включает выводы, практические рекомендации и список литературы. Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста включает 201 источник литературы из которых 45 отечественных и 156 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 29 рисунками и 18 таблицами.

В первой главе автор приводит литературный обзор, посвященный актуальности и проблемам ТЛМ. Описаны преимущества метода «высушенной капли» для проведения ТЛМ перед стандартными способами сбора биоматериала, возможности применения данного метода для фенотипирования. Также описаны недостатки данной методики, возможные пути их решения, что и проделал автор в своей работе.

Во второй главе подробно и детально описаны материалы и методы исследования, представлены способы пробоподготовки, условия хроматографического определения и параметры масс-спектрометрического детектирования пиперациллина, эверолимуса,

ивабрадина и ванкомицина. Выбранные автором методы адекватны задачам исследования, современны, информативны, позволяют достичь поставленную цель.

В третьей и четвертой главах соискателем описаны основные результаты с подробным описанием, в таблицах приведены валидационные параметры, характерные для традиционных способов сбора биоматериала и для «высушенной капли». Приведены разработанные протоколы отбора, хранения проб и валидации количественного ВЭЖХ-МС/МС определения выбранных лекарственных препаратов, которые позволяют успешно внедрить новую методику в широкую клиническую практику.

Оптимизирован метод фенотипирования с помощью «ивабрадинового теста» с использованием метода «высушенной капли», что позволило снизить время анализа более чем в 4 раза и повысить чувствительность в 10 раз. Образцы «высушенной капли крови» были стабильны в течение 14 дней при температуре 22 °С и 45 °С. Полученные данные позволяют рекомендовать метод «высушенной капли» для проведения фенотипирования СYP3A4 с использованием «ивабрадинового теста» для проведения мониторинга изменения активности данного изофермента у пациентов, получающих его индуктор либо ингибитор в составе плановой фармакотерапии, а также для проведения ТЛМ и оптимизации режима дозирования лекарственных препаратов для различных групп пациентов.

Диссертация завершается выводами и практическими рекомендациями, которые соответствуют поставленным целям и задачам исследования. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключения диссертанта следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации адекватно отражает основное содержание диссертационного исследования, полностью соответствует разделам, положениям и выводам диссертационной работы.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного уточнения, но не затрагивающие существа работы:

1. С чем была связана оптимизация метода фенотипирования с использованием «ивабрадинового теста»?
2. Целесообразно ли применение терапевтического лекарственного мониторинга с использованием «высушенной капли» с экономической точки зрения?
3. Каким образом будет проводиться корректировка режимов дозирования при проведении терапевтического лекарственного мониторинга с использованием «высушенной капли»?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Аникеева Ивана Сергеевича на тему «Оптимизация технологий терапевтического лекарственного мониторинга с использованием метода «высушенной капли» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи, имеющей важное значение для фармакологии и клинической фармакологии, а именно, разработка методик количественного хромато-масс-спектрометрического анализа лекарственных препаратов и оптимизация терапевтического лекарственного мониторинга с использованием метода «высушенной капли», что соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор Аникеев И. С. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", доктор биологических наук (14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология), доцент

Пересыпкина Анна Александровна

«17» мая 2024 года

Подпись д.б.н., доцента Пересыпкиной А.А. заверяю

Личную подпись
удостоверяю
Ведущий специалист
по кадрам
департамента управления
персоналом



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Адрес организации: 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Победы, 85

Тел.: +7 (4722) 30-12-11

E-mail: Info@bsu.edu.ru

Официальный сайт: <https://bsuedu.ru/bsu/>

В Диссертационный Совет 21.2.005.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук, созданного при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СВЕДЕНИЯ

об оппоненте Пересыпкиной Анне Александровне по диссертации Аникеева Ивана Сергеевича по теме «Оптимизация технологий терапевтического лекарственного мониторинга с использованием метода «высушенной капли» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки)

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (организация, должность)	Ученая степень, ученое звание, специальность, по которой защищена диссертация	Основные научные работы
Пересыпкина Анна Александровна	1987 Гражданство РФ	ФГАОУ ВО "Белгородский государственный национальный исследовательский университет", кафедра фармакологии и клинической фармакологии, профессор	Доктор биологических наук, доцент, 14.03.06 -- Фармакология, клиническая фармакология	<p>1. Фармакокинетические свойства нового супрамолекулярного комплекса на основе 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина N-ацетил-6-аминогексаноата и 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина 3-пиридинокарбоната, обладающего остеопротекторной активностью в исследованиях in vitro / А. П. Даниленко, Н. С. Жунусов, А. А. Хенгов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2024. – Т. 87, № 2. – С. 13-19. – DOI 10.30906/0869-2092-2024-87-2-13-19. – EDN AVNJOQ.</p> <p>2. Оценка эффективности 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина N-ацетилтаурината и его комбинации с тимололом при коррекции первичной открытоугольной глаукомы у крыс / С. В. Ефименко, А. А. Пересыпкина, М. В. Покровский [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 10. – С. 9-15. – DOI 10.30906/0869-2092-2023-86-9-9-15. – EDN MPRCTH.</p> <p>3. Studies to elucidate the effect and antiapoptotic mechanism of 2-ethyl-3-hydroxy-6-methylpyridine-n-acetyltaurinate in a rat model of retinal ischemia-reperfusion / S. V. Efimenko, S. S. Chernyaeva, A. A. Peresyapkina [et al.] // Research Results in Biomedicine. – 2022. – Vol.</p>

				<p>8, No. 3. – P. 317-326. – DOI 10.18413/2658-6533-2022-8-3-0-5. – EDN BPICTX.</p> <p>4. Correction of hypertensive retinal changes in rats with Semax / S. S. Lugovskoy, S. S. Chernyaeva, A. A. Peresyphkina [et al.] // Research Results in Biomedicine. – 2021. – Vol. 7, No. 3. – P. 272-280. – DOI 10.18413/2658-6533-2021-7-3-0-6. – EDN ISSMNL.</p> <p>5. Effect of L-norvaline on the small intestinal: Wall blood perfusion in a model of acute segmental mesenteric thrombosis / E. N. Bezhdina, S. A. Alekhin, E. B. Artyushkova [et al.] // Archivos Venezolanos de Farmacologia y Terapeutica. – 2020. – Vol. 39, No. 5. – P. 556-560. – EDN VKQDIQ.</p>
--	--	--	--	---

Согласна на оппонирование, не имею научных работ в соавторстве с соискателем, не являюсь членом Экспертного совета Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации

Оппонент

Доктор биологических наук, доцент (14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология) кафедры фармакологии и клинической фармакологии, профессор НИУ «БелГУ»

А. А. Пересыпкина А. А. Пересыпкина

Подпись доктора биологических наук, доцента Пересыпкиной Анны Александровны «заверяю».

«15» апреля 2024 года

Личную подпись удостоверяю
Ведущий специалист по кадрам
департамента управления персоналом

20

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Адрес организации: 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Победы, 85,

Тел.: +7 (4722) 30-12-11

E-mail: Info@bsu.edu.ru

Официальный сайт: <https://bsuedu.ru/bsu/>