

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора кафедры общей и клинической фармакологии Медицинского института ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы" Бондаревой Ирины Борисовны 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

Работа Аникеева Ивана Сергеевича посвящена оптимизации технологий терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) с использованием метода «высушенной капли». Исторически сложилось, что в аналитических целях в медицине используют плазму или сыворотку крови. Плазма и сыворотка крови наиболее широко используются для терапевтического лекарственного мониторинга, для них определены терапевтические и токсические диапазоны концентраций для большинства лекарственных препаратов. Основой для получения данных биоматриц выступает цельная кровь, взятая у пациента с помощью венепункции. Однако во многих клинических ситуациях данный способ взятия проб не является приемлемым, что значительно ограничивает возможности использования ТЛМ для персонализации фармакотерапии. Поэтому в последнее время всё больше внимания уделяется созданию менее инвазивных технологий получения биоматериала, одним из которых является метод «высушенной капли». Метод «высушенной капли» позволяет преодолеть ограничения стандартных способов сбора биоматериала, так как требует получения минимальных количеств капиллярной крови путём пальцевого прокола с последующим нанесением капли крови на маркированную область специальной бумаги, на которой полученная капля высыхает, после чего образец может быть транспортирован в лабораторию. Развитие высокочувствительных методов определения концентрации препарата в микропробах сложной матрицы делает этот метод достаточно перспективным, в том числе и для целей ТЛМ.

Индивидуализация дозирования на основе терапевтического лекарственного мониторинга все шире используется в практической медицине, и развитие метода «высушенной капли» очень важно для дальнейшего распространения ТЛМ в реальной клинической практике, и в частности, в популяции детей и новорожденных. А, с позиции пациента, возможность забора капиллярной крови вместо венозной всегда является желаемой альтернативой. Таким образом, рецензируемая работа имеет важное клиническое и социальное значение.

Новизна исследования и полученных результатов диссертации

Разработаны и оптимизированы методы количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ивабрадина, ванкомицина, пиперациллина, эверолимуса с использованием «высушенной капли» в качестве пробоподготовки, с целью последующего фенотипирования СYP3A4 с использованием «ивабрадинового теста», а также проведения ТЛМ для препаратов с узким терапевтическим диапазоном.

Автором были изучены особые параметры валидации нового метода, такие как: эффект гематокрита, объема и однородности капли, сделаны выводы о влиянии данных параметров на результаты анализа, что позволило впервые провести полную валидацию. Методики определения изучаемых лекарственных препаратов с помощью ВЭЖХ-МС/МС и "высушенной капли" (подбор условий и оборудование) могут считаться уникальными.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Разработанные протоколы взятия, хранения и анализа биообразцов позволят в дальнейшем исследователям успешно проводить фенотипирование СYP3A4 с использованием «ивабрадинового теста», а также расширять внедрение в клиническую практику терапевтического лекарственного мониторинга препаратов с узким терапевтическим диапазоном ванкомицина, пиперациллина и эверолимуса, включая особые популяции пациентов и учитывая возможность проведения процедуры взятия биоматериала пациентами самостоятельно с последующим транспортом образцов в лабораторию. Последнее позволяет повысить точность идентификации параметров фармакокинетической/ фармакодинамической модели для индивидуализации дозирования за счет взятия большего числа проб у пациента, а также использовать более сложную модель для интерпретации измерений. Кроме того, появляется потенциальная возможность более

тщательного мониторинга пациента для подбора персонализированного режима дозирования.

Валидированные параметры методов количественного ВЭЖХ-МС/МС определения концентрации лекарственных средств ванкомицина, пиперациллина и эверолимуса могут быть использованы в клинической практике. Полученные рекомендации по применению новой технологии позволят проводить исследования и разрабатывать метод «высушенной капли» и для других лекарственных препаратов.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала с использованием современных методов и методических подходов, соответствующих поставленным задачам. Представленные результаты получены в ходе грамотно спланированного исследования. Измерения концентрации лекарственных препаратов проводились на сертифицированном и поверенном аналитическом оборудовании, представленные методики были надлежащим образом валидированы в соответствии с имеющимися рекомендациями.

Полная валидация количественных методик с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией четырех лекарственных препаратов (ванкомицин, пиперациллин, эверолимус, ивабрадин) проводилась по 6-ти стандартным параметрам и трем новым, характерным только для «высушенной капли».

Были оценены различные способы ионизации при масс-спектрометрическом детектировании, также была представлена оптимизация протоколов взятия, хранения и анализа биологических образцов при проведении терапевтического лекарственного мониторинга с использованием метода «высушенной капли». Выявлены специфические характеристики, такие 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 объёмов (10, 40, 70 мкл) 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 экспериментальным материалом, анализом литературы, адекватной статистической обработки полученных данных.

Теоретическая и научно-практическая значимость

Разработан метод количественного ВЭЖХ-МС/МС определения ивабрадина с использованием «высушенной капли крови» в качестве пробоподготовки с целью последующего фенотипирования СYP3A4 с использованием «ивабрадинового теста» для проведения мониторинга изменения активности данного изофермента у пациентов, получающих его индуктор либо ингибитор в составе плановой фармакотерапии.

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

В диссертационной работе предложены новые протоколы взятия, хранения и анализа биологических образцов, обеспечивающие достижение приемлемых валидационных характеристик при количественном ВЭЖХ-МС/МС определении лекарственных препаратов с использованием метода «высушенной капли». Все параметры валидации соответствовали критериям приемлемости. Образцы «высушенной капли крови» были стабильны в течение 14 дней при температуре 22°C и 45 °C. Небольшой объем крови, сокращенное время анализа в сочетании с простотой аналитической методикой позволяют сделать этот метод доступным для терапевтического лекарственного мониторинга пиперациллина, ванкомицина и эверолимуса, что особенно важно в сложных клинических случаях.

Это позволит в дальнейшем успешно проводить фенотипирование с использованием «ивабрадинового теста» и применять ТЛМ для целого ряда клинических ситуаций, в которых ранее он был затруднен или невыполним.

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

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, полученные результаты и их обсуждение, а также выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 201 источник из которых 45 отечественных и 156 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 29 рисунками и 18 таблицами. Построение диссертации классическое в соответствии с существующими требованиями.

Во введении четко обозначена актуальность исследования, сформулированы цель и соответствующие ей задачи, корректно представлены положения, выносимые на защиту.

В первой главе на высоком профессиональном уровне с учетом данных современных источников научной литературы приведен литературный обзор по теме диссертации. Обзор литературы написан хорошим литературным языком, полностью отражает современное состояние исследуемой темы. В обзоре изложены преимущества и основные проблемы проведения терапевтического лекарственного мониторинга. Описан метод «высушенной капли», который обладает рядом объективных преимуществ перед стандартными способами сбора биоматериала, такими как достаточная простота, малоинвазивность, стабильность анализируемых веществ, удобство транспортировки и хранения, а также возможность пробоподготовки без участия медицинского персонала. Все эти преимущества дают возможность

применения терапевтического лекарственного мониторинга в тех клинических случаях, в которых он был затруднен или невозможен.

Во второй главе представлено используемое оборудование, подробно и детально описаны методы пробоподготовки, подбор условий хроматографического определения и параметры масс-спектрометрического детектирования каждого из четырех изученных препаратов. В главе также описаны статистические методы анализа данных. Выбранные автором методы адекватны поставленным задачам, современны, информативны, позволяют достичь поставленную цель.

В третьей и четвертой главе соискателем подробно описаны основные результаты работы, которые подтверждают возможность использования «высушенной капли» для проведения терапевтического лекарственного мониторинга. Приведены протоколы отбора и хранения проб, которые позволяют успешно внедрить новую методику в клиническую практику. 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. Образцы «высушенной капли крови» были стабильны в течение 14 дней при температуре 22°C и 45 °C. Проведенная оценка специфических параметров валидации не показала влияния на результат анализа, и соответствуют критериям приемлемости. Полученные результаты 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 использовать метод «высушенной капли» для проведения терапевтического лекарственного мониторинга и оптимизации режима дозирования лекарственных препаратов для различных групп пациентов.

Диссертация завершается выводами и практическими рекомендациями, которые полностью соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

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 диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного уточнения, но не затрагивающие существа работы:

1. Целью клинической валидации является демонстрация согласованности результатов измерений концентрации лекарственного препарата на основе метода «высушенной капли» с результатами на основе традиционных методов, которые обычно используются для терапевтического лекарственного мониторинга. Это важно, поскольку большинство методов интерпретации измерений ТЛМ, терапевтические и токсические диапазоны, а также рекомендации по принятию клинических решений основаны на результатах, полученных традиционными методами пробоподготовки. Была ли проведена такая клиническая валидация для эверолимуса и пиперециллина?

2. Результаты клинической валидации для ванкомицина демонстрируют клинически незначимый средний сдвиг результатов измерений при сравнении методов пробоподготовки по Блэнду-Алтману. Являются ли приведенные в работе границы $\pm 2s$ допустимыми для признания измерений на основе сравниваемых методов пробоподготовки взаимозаменяемыми при проведении ТЛМ?

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 большое значение для фармакологии и клинической фармакологии, 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 общей и клинической фармакологии Медицинского института ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы" доктор биологических наук (14.00.25 Фармакология, клиническая фармакология)

Бондарева Ирина Борисовна

«14 мая» 2024 года

Подпись И.Б. Бондаревой подтверждаю

Ученый секретарь
ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы" к.фарм.н., доцент



Максимова Татьяна Владимировна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы"

Адрес организации: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Тел.: +7 (499) 936-87-87

E-mail: rudn@rudn.ru

Официальный сайт: <https://www.rudn.ru/>

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

СВЕДЕНИЯ

об оппоненте Бондаревой Ирине Борисовне по диссертации Аникуева 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
Бондарева Ирина Борисовна	1963, Гражданство РФ	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы", кафедра общей и клинической фармакологии Медицинского института РУДН, профессор	Доктор биологических наук, профессор, 14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология	<p>1. Бондарева, И. Б. Фармакокинетический анализ данных терапевтического лекарственного мониторинга меропенема в крови у взрослых пациентов, находящихся в критическом состоянии / И. Б. Бондарева, С. К. Зырянов, М. С. Ченкуров // Антибиотики и химиотерапия. – 2021. – Т. 66, № 11-12. – С. 31-38. – DOI 10.37489/0235-2990-2021-66-11-12-31-38. – EDN IERLEU.</p> <p>2. Бондарева, И. Б. Популяционная фармакокинетика меропенема у недоношенных новорожденных / И. Б. Бондарева, С. К. Зырянов, А. М. Казанова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2021. – Т. 76, № 5. – С. 497-505. – DOI 10.15690/vstnik1449. – EDN WSDGQT.</p> <p>3. Бондарева, И. Б. Популяционный фармакокинетический анализ данных терапевтического лекарственного мониторинга леветирацетама у недоношенных новорожденных с неонатальными судорогами / И. Б. Бондарева, С. К. Зырянов, М. А. Ивжид // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2021. – Т. 100, № 1. – С. 190-200. – DOI 10.24110/0031-403X-2021-100-1-190-201. – EDN SEXYDC.</p> <p>4. Терапевтический лекарственный мониторинг как</p>

				<p>инструмент повышения эффективности и безопасности антибактериальной терапии при беременности / М.А. Ивжиц, М.С. Ченкуров, С.К. Зырянов, И.Б. Бондарева, А.М. Казанова // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2020. – Т. 8. – № 1 (27). – С. 87-88.</p> <p>5. Опыт применения терапевтического лекарственного мониторинга у пациента с хирургическим сепсисом / С. К. Зырянов, И. Б. Бондарева, М. С. Ченкуров, М. А. Ивжиц // Трудный пациент. – 2020. – Т. 18, № 11-12. – С. 35-39. – DOI 10.24411/2074-1995-2020-10081. – EDN NAVHPR.</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 (14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология), профессор кафедры и общей клинической фармакологии Медицинского института РУДН

Подпись доктора биологических наук Бондаревой Ирины Борисовны удостоверяю:
 Ученый секретарь Ученого совета
 Медицинского института РУДН,
 Кандидат фармацевтических наук, доцент

« 15 » 04 _____ 2024 года

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы"

Адрес организации: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Тел.: +7 (499) 936-87-87

E-mail: rudn@rudn.ru

Официальный сайт: <https://www.rudn.ru/>


 И. Б. Бондарева
 Т. В. Максимова