

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации Ройтмана Александра Польевича на диссертационную работу Безвуляк Екатерины Игоревны на тему: «Клинико-лабораторная оценка методов терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессивной терапии у пациентов после трансплантации сердца», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

### Актуальность темы исследования

Актуальность диссертационного исследования Безвуляк Екатерины Игоревны не вызывает сомнений.

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является острой медицинской проблемой во всем мире, и в Российской Федерации, в частности. Заболеваемость ХСН постоянно растет, что демонстрируется статистическими данными. Прогнозирование эпидемиологических исследований показывают, что к 2050 году количество больных ХСН увеличится на 60% по сравнению с 2010 годом. В России по последним данным общее число пациентов с ХСН – 12 млн. чел., 4,5 млн. из которых – III и IV ФК по NYHA. Для 5% пациентов с ХСН III и IV ФК единственным способом лечения является трансплантация сердца.

Трансплантация сердца – высокотехнологичный метод лечения терминальной стадии хронической сердечной недостаточности, являющийся единственным эффективным методом помощи для пациентов, риск смерти которых в течение года превышает 50%, а другие методы лечения невозможны. Количество ежегодно выполненных пересадок сердца неуклонно растет и составляет более 6000 операций в год во всем мире.

Исходы для пациентов после пересадки сердца определяются многими факторами. На сегодняшний день медиана выживаемости пациентов после

трансплантации сердца составляет 14 лет. Одним из ведущих лимитирующих факторов, ограничивающих продолжительность жизни у данной группы больных, является острое и хроническое отторжение сердечного трансплантата, для профилактики которого всем пациентам пожизненно назначаются комбинации иммуносупрессивных препаратов. Эффективностью и безопасностью иммуносупрессивной терапии определяется успех в отношении профилактики этого жизнеугрожающего состояния.

Сложность обеспечения качественной иммуносупрессивной терапии определяется тем, что иммуносупрессанты являются препаратами «критической дозы», а факторов, оказывающих влияние на достижение целевой концентрации множество. Подобное положение вещей приводит к рискам отторжения трансплантата, ввиду недостижения целевых концентраций иммуносупрессантов, либо к рискам токсических проявлений препаратов в случае превышения концентрации верхнего уровня терапевтического диапазона.

Одним из таких препаратов, используемых впервые у пациентов после пересадки сердца с 2016 г. является ингибитор пролиферативного сигнала эверолимус, обладающий целым рядом достоинств. Терапевтический диапазон препарата составляет от 3 до 8 нг/мл, что делает трудно достижимой эффективную и безопасную терапию препаратом без индивидуального подбора дозы.

Инструментом персонализированной медицины, помогающем в решении этой проблемы, является терапевтический лекарственный мониторинг, реализуемый разными лабораторными технологиями. Ведущими и используемыми в современных лабораториях терапевтического лекарственного мониторинга выступают иммунохимический метод и высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием. Каждый метод обладает различными преимуществами и недостатками. В литературе неоднократно отмечается факт



несопоставимости результатов, полученных разными методами. Однако исследований, подтверждающих данные рассуждения не проводилось.

Учитывая, что обеспечение эффективной и безопасной иммуносупрессивной терапии является жизненно важной задачей для пациентов после трансплантации сердца, а эверолимус – новым препаратом, используемым у этой группы больных, то вопрос научно-обоснованного выбора оптимальной лабораторной технологии для проведения постоянного терапевтического лекарственного мониторинга эверолимуса у пациентов после трансплантации сердца является крайне актуальным.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

Автор диссертационного исследования Безвуляк Екатерина Игоревна представила опыт использования иммунохимического метода и высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией для проведения лабораторного контроля терапии эверолимусом у пациентов после трансплантации сердца. Модифицирована, валидирована и внедрена в лабораторную и клиническую практику аналитическая методика количественного определения эверолимуса в цельной крови методом ВЭЖХ-МС/МС, продемонстрировав хорошие результаты внешнего контроля качества и положительную динамику в отношении отдаленных результатов лечения.

В представленном исследовании впервые проведено сравнение лабораторной и клинической информативности иммунохимического метода и хромато-масс-спектрометрии на примере количественного определения эверолимуса в крови больных после пересадки сердца.

В ходе диссертационной работы впервые установлено аналитическое смещение между результатами, полученными при использовании иммунохимического метода и ВЭЖХ-МС/МС, которое составило 29% в меньшую сторону для последнего.

Впервые показано, что использование ВЭЖХ-МС/МС для мониторинга концентраций эверолимуса у пациентов с сердечным трансплантатом снижает риски острого отторжения, инфекционных осложнений иммуносупрессивной терапии и улучшает прогноз в отношении болезни коронарных артерий пересаженного сердца.

### **Достоверность и апробация результатов**

Работа выполнена на высоком методическом уровне с соблюдением всех правил проведения научных исследований и этических принципов. Достоверность и обоснованность положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертационной работе Безвуляк Е.И., не вызывают сомнений, т. к.:

- 1) был проведен тщательный анализ данных литературных источников;
- 2) модифицированная аналитическая методика, внедренная для реализации хромато-масс-спектрометрического метода для количественного определения эверолимуса в цельной крови удовлетворяет международным требованиям к валидации биоаналитических методик;
- 3) оценка величины аналитического смещения выполнена на достаточном количестве проб пациентов, требуемом Институтом клинических и лабораторных стандартов;
- 4) для проведения оценки аналитического смещения между методами исследовали цельную кровь из одной и той же пробирки двумя методами. Получение крови от пациентов выполнялось всегда перед приемом следующей дозы эверолимуса;
- 5) клиническая информативность каждого из сравниваемых методов оценивалась на протяжении 2 лет с регулярно повторяющимся амбулаторным обследованием пациентов через равные промежутки времени;



- б) все лабораторные исследования были выполнены на современном сертифицированном лабораторном оборудовании с регулярным проведением внутрिलाбораторного контроля качества и межлабораторных сличительных испытаний;
- 7) для проведения статистического анализа использовались современные статистические пакеты программ GraphPad Prism 9.5.1 и STATISTIKA (версия 10);

Результаты диссертационного исследования и основные положения работы неоднократно обсуждены на девяти научных всероссийских и международных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, 4 из которых изданы в научно-практических журналах, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и 2 в журналах, входящих в перечень, индексируемых в Scopus.

Выносимые на защиту положения, практические рекомендации и выводы логичны и аргументированы, поставленным задачам соответствуют. Соблюдены все требуемые этические нормы научного исследования с участием человека.

### **Теоретическая и практическая значимость полученных результатов**

Теоретическая значимость работы заключается в расширении существующих знаний о современных лабораторных технологиях терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессантов. Показаны научно-обоснованные результаты сравнительного исследования лабораторных методов измерения концентрации лекарственных средств, которые позволяют обосновано считать высокоэффективную жидкостную хроматографию в сочетании с тандемной масс-спектрометрией «золотым стандартом» для проведения терапевтического лекарственного мониторинга препаратов с узким терапевтическим интервалом. Результаты

диссертационного исследования являются базой и научной идеей для дальнейших исследований в области обеспечения безопасности и эффективности фармакотерапии.

Автором диссертационного исследования представлены доказательства практической значимости использования хромато-масс-спектрометрии как «метода выбора» для проведения терапевтического лекарственного мониторинга эверолимуса у пациентов, перенесших трансплантацию сердца, по сравнению с иммунохимическим методом, продемонстрировавшие более низкие уровни рисков острого отторжения сердечного трансплантата, инфекционных осложнений и улучшение течения болезни коронарных артерий.

Полученные результаты научно-исследовательской работы внедрены в деятельность центральной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Теоретически значимые результаты исследования внедрены в образовательный процесс кафедры лабораторной медицины с клиникой ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Личное участие автора в разработке научной проблемы**

Планирование диссертационной работы, формулировка цели и задач, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования выполнялось автором совместно с научным руководителем. Личный вклад Безвуляк Е.И. состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: анализе отечественных и зарубежных публикаций по изучаемой проблеме, проведении экспериментальной части работы по модификации, валидации и внедрению методики количественного определения эверолимуса в цельной крови методом ВЭЖХ-МС/МС, проведении лабораторных исследований,



статистической обработке полученных результатов, написании и оформлении рукописи диссертации.

### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом**

Диссертация Безвуляк Екатерины Игоревны является завершенной работой, построенной по традиционной схеме в соответствии с основными требованиями по оформлению диссертационных работ. Диссертационная работа изложена на 115 страницах машинописного текста, иллюстрирована 27 рисунками и 22 таблицами, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы и приложения. Список литературы содержит 139 источников (57 отечественных и 82 зарубежных).

Во введении автором обоснована актуальность темы диссертации, представлена степень разработанности проблемы другими исследователями, определены цель и задачи работы. Практическая и теоретическая значимость четко обоснованы и сформулированы.

Глава «Обзор литературы» посвящена анализу отечественных и зарубежных публикаций по проблеме оптимизации терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессантов у пациентов после трансплантации сердца. Обзор литературы демонстрирует проблему распространения и прогрессирования хронической сердечной недостаточности как в Российской Федерации, так и во всем мире. Отражено, что трансплантация сердца на сегодняшний день остается «золотым стандартом» и единственным радикальным эффективным методом лечения пациентов с терминальной стадией сердечной недостаточности. Детально изложена проблема отторжения сердечного трансплантата с описанием патогенетических механизмов развития, подробно рассмотрена структура индукционной и поддерживающей иммуносупрессивной терапии,

назначаемой после пересадки сердца. Подробно раскрыта проблема необходимости контроля концентрации иммуносупрессантов в крови пациентов с целью обеспечения безопасности и эффективности фармакотерапии. Детально рассмотрены лабораторные возможности обеспечения терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессантов, выявлены достоинства и недостатки медицинских лабораторных технологий в приложении к фармакокинетическому контролю иммуносупрессивной терапии.

В главе 2, посвященной описанию материалов и методов исследования, представлен дизайн исследования и описаны этапы выполнения диссертационной работы. Подробно представлена клиническая характеристика обследуемых, включающая 15 пациентов, перенесших трансплантацию сердца и наблюдаемых в амбулаторных и стационарных условиях в течение 4 лет, описаны инструментальные и лабораторные методы обследования пациентов, используемые для диагностики осложнений иммуносупрессивной терапии, подробно изложены лабораторные методы проведения терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессивной терапии у исследуемой группы. Достаточно подробно изложена экспериментальная часть работы. Статистическая обработка полученных результатов исследования проводилась с использованием современных статистических методов, что позволило автору сделать обоснованные выводы.

В главе 3 автор приводит результаты экспериментальной части работы, протокол валидации модифицированной и внедренной методики количественного определения эверолимуса в цельной крови, демонстрирует результаты расчета аналитического смещения между показателями, полученными иммунохимическим методом и ВЭЖХ-МС/МС при исследовании образцов пациентов. Особо ценное значение имеют результаты диссертационной работы, демонстрирующие существенную клиническую разницу в отдаленных последствиях, при использовании различных методов



терапевтического лекарственного мониторинга эверолимуса, а именно снижение рисков острого клеточного и антителоопосредованного отторжения, улучшение прогноза в отношении болезни коронарных артерий пересаженного сердца, снижение частоты инфекционных осложнений иммуносупрессивной терапии при использовании ВЭЖХ-МС/МС для проведения терапевтического лекарственного мониторинга эверолимуса по сравнению с иммунохимическим методом.

Глава «Обсуждение результатов» четко и лаконично изложены: анализ полученных результатов, интерпретация их в контексте изучаемой проблемы, сравнение с результатами других исследователей, отмечаются сильные и слабые стороны работы.

В заключении автор обобщает основные результаты исследования и формулирует собственное мнение об итогах работы.

Выводы диссертационной работы научно обоснованы, логичны, отражают научную новизну работы, согласуются с поставленной целью и задачами научной работы.

Практические рекомендации диссертации имеют адресный характер, сформулированы в виде конкретных предложений и указаний по применению полученных результатов исследования в реальной лабораторной и клинической практике, демонстрируют прикладное значение работы и ее потенциал для решения актуальных проблем практического здравоохранения.

Автореферат диссертационной работы Безвуляк Е.И. представляет собой краткое полноценное изложение основного содержания научной работы, включающее основные положения диссертации, выводы и рекомендации, и отражающее научную новизну, актуальность и практическую значимость работы.

### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

Работа Безвуляк Екатерины Игоревны оставляет хорошее впечатление. Содержание диссертации, ее оформление, характер изложения материала

соответствуют всем установленным критериям. Принципиальных замечаний, которые могли бы повлиять на общую положительную оценку рецензируемой работы нет. В тексте встречаются стилистические погрешности, однако они не оказывают существенного влияния на восприятие текста в целом и не уменьшают научной и практической значимости проведенного исследования.

В порядке дискуссии хотелось бы услышать ответы диссертанта на следующие вопросы:

1. Какие методы иммунохимического лекарственного мониторинга эверолимуса существуют в клинической лабораторной практике?
2. По какой программе и с какими лабораториями проводились межлабораторные сличительные исследования?

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Безвуляк Екатерины Игоревны «Клинико-лабораторная оценка методов терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессивной терапии у пациентов после трансплантации сердца», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является самостоятельной законченной научной квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая задача – определение оптимального лабораторного метода терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессивных препаратов у пациентов после трансплантации сердца, что имеет существенное значение для клинической лабораторной диагностики, кардиологии, трансплантологии и других медицинских специальностей.

По актуальности выбранной темы, поставленным задачам, научной новизне и практической значимости полученных результатов, обоснованности научных выводов диссертация Безвуляк Е.И. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ «О



