

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, заведующей кафедрой клинической фармакологии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России Батищевой Галины Александровны на диссертацию Смирнова Валерия Валерьевича «Разработка комплексного подхода оценки активности основных изоферментов метаболизма лекарственных средств для изучения их фармакокинетики на различных этапах исследований *in vivo*, а также персонализации фармакотерапии» на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность темы

Повышение эффективности оказания медицинской и лекарственной помощи связано с внедрением научных достижений персонализированной медицины, цифровых технологий, инжиниринга и других современных методов. Разработка новых высокочувствительных методов анализа, оптимизация и персонализация режима дозирования лекарственных препаратов открывают перспективу для проведения фармакотерапии на новом уровне.

В настоящее время при индивидуальном подборе дозы лекарственных средств используют генотипирование и фенотипирование ферментов метаболизма и транспортеров лекарственных средств, однако оба подхода имеют свои недостатки. При генотипировании невозможно оценить способность влияния факторов окружающей среды в процессе лечения, а при фенотипировании могут возникать нежелательные побочные реакции, что ограничивает применение значительного количества препаратов у уязвимых групп населения (беременные женщины, дети и лица пожилого возраста).

С учетом вышеперечисленных недостатков при проведении исследований существует возможность замены препаратов-маркеров эндогенными биомаркерами. Однако в ряде случаев количественное определение эндогенных веществ в биоматрицах может быть затруднительным, что связано с невозможностью получения абсолютно идентичной биоматрицы без анализи-

руемого эндогенного соединения. При использовании дейтерированных аналогов определяемых веществ в качестве внутреннего стандарта применение эндогенных маркеров становится реальным, но крайне дорогостоящим.

Одним из современных и актуальных методов, который можно использовать для решения аналогичных задач, является метаболомика. Для этого требуется определение изучаемой популяции, включая генотип участников, частоту встречаемости изоферментов с определенными генетическими полиморфизмами. Еще одним подходом является регуляция активности ферментов CYP450, что дает возможность использовать для идентификации эндогенных биомаркеров CYP450 применение метаболомного анализа.

Таким образом, для активной реализации персонализированного подхода на основе современных технологических возможностей необходим комплексный подход к оценке активности изоферментов системы P450, что может обеспечить рациональный подбор фармакотерапии и бережное отношение к пациенту.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Автором проведен глубокий анализ источников, касающихся применения современных методов анализа и методологии фенотипирования, оценки активности изоферментов системы P450.

В диссертационном исследовании автору удалось провести разработку и валидацию методик количественного определения маркеров с помощью современных хроматографических методов анализа, а также изучить связь генотипирования и фенотипирования пациентов по активности CYP450.

Автором осуществлен анализ возможности использования разработанных методик для выявления воздействия лекарственных средств на систему CYP450 на примере препарата Афобазол, а также возможность их применения для повышения эффективности и безопасности фармакотерапии у пациентов, страдающих алкоголизмом.

В исследовании представлены данные о возможности персонализации терапии препаратами различных фармакологических групп (ривароксабан, омепразол, апиксабан, феназепам, галоперидол, карбамазепин, этилметилгидроксипиридин).

Все представленные диссертантом результаты исследования, выводы и практические рекомендации основаны на экспериментальных данных.

Достоверность и новизна полученных данных

В диссертационном исследовании впервые предложена и обоснована математическая методика расчета концентраций эндогенных соединений в биообъектах с применением метода хроматографии, исключая использование «чистых» биообъектов для калибровочных кривых и дорогостоящих дейтерированных аналогов маркеров – субстратов изоферментов CYP450 и их метаболитов.

С помощью препаратов-маркеров активности CYP1A2 и CYP2C9 автору впервые удалось показать, что лекарственное средство афобазол в эффективной, анксиолитической дозе не вызывает какого-либо действия (ингибирующего или индуцирующего) и не влияет на фармакокинетику субстратов, метаболизируемых изучаемыми изоформами цитохрома P450.

Впервые автору удалось на основании сопоставления результатов, полученных с использованием кортизола, холестерина и их метаболитов, установить взаимозаменяемость данных методик для оценки активности изофермента CYP3A4.

В диссертационном исследовании по отношению концентраций параксантина к кофеину, а CYP2C9 – по E-3174 к лозартану определена возможность изучения активности CYP1A2.

Автором выявлено существенное влияние активности CYP2D6 и CYP3A4 на эффективность и безопасность галоперидола у больных, страдающих алкогольной зависимостью. В результате исследования установлено, что ускоренная биотрансформация галоперидола и его элиминация из орга-

низма влияют на показатели эффективности и безопасности. Чем выше активность данных изоферментов, тем ниже показатели эффективности терапии галоперидолом, а безопасность применения препарата может повышаться по мере увеличения активности изоферментов.

Научная новизна разработанного метода подтверждена патентом РФ «Способ активации изофермента P450 (CYP) 3A4 у пациентов с хронической сердечной недостаточностью» (патент № 2554775).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Комплексный подход для оценки активности изоферментов системы цитохрома P450 дает возможность для проведения доклинических и клинических исследований на различных стадиях жизненного цикла лекарственных средств, включая этап обращения и персонализации фармакотерапии.

Представленные в работе данные об алгоритме количественного определения эндогенных веществ в биообъектах хроматографическими методами позволяют получить достоверную интервальную оценку концентрации эндогенных соединений, чем отличается от существующих методик, которые получают точечную оценку концентраций по калибровочной кривой. Разработанный комплексный подход оценки активности CYP450 (на примере препарата Афобазол) может быть использован для определения взаимодействия исследуемых лекарственных средств с изоферментом CYP450.

Полученные экспериментальные данные по изучению целого ряда препаратов (ривароксабан, омепразол, апиксабан, феназепам, галоперидол, карбамазепин, этилметилгидроксипиридин) дают возможность для более глубокой оценки их фармакокинетики и лекарственного взаимодействия с другими препаратами при совместном применении.

Результаты экспериментальных исследований могут быть использованы для контроля эффективности и безопасности фармакотерапии пациентов с различными нозологическими формами (например, сердечная недостаточность, язвенная болезнь желудка, алкоголизм, бронхиальная астма).

Разработанные методики могут стать основой для коррекции фармакотерапии феназепамом и карбомазепином при их совместном применении у больных, страдающих алкоголизмом.

На основании проведенного анализа активности изофермента цитохрома P450 CYP2C9 автором опубликованы Методические рекомендации «Обследование больных бронхиальной астмой для диагностики стероидной резистентности с учетом клинико-иммунологических и генетических особенностей с целью оптимизации эффективности лечения».

Важным вкладом диссертанта в решение проблемы персонификации фармакотерапии являются подготовленные Методические рекомендации по применению методик определения активности различных изоферментов цитохрома P450.

На основании результатов диссертационного исследования опубликовано 59 научных работ, в том числе 37 из них в журналах SCOPUS и ВАК Минобрнауки России.

Результаты работы внедрены в образовательные программы кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева Института фармации им. А.П. Нелюбина и кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Сеченовского Университета.

Полученные результаты внедрены в работу лаборатории клинической фармакологии ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, в работу отдела клинической фармакокинетики Центра Клинической Фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ, в работу лаборатории фармакокинетики ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В.В.Закусова" РАН.

Достоинства и недостатки в содержании оформлении диссертации, оценка её завершенности

Диссертация имеет классическую структуру и включает в себя введение, обзор литературы (глава 1), описание объектов, материалов и методов исследования (глава 2), обсуждение собственных экспериментальных иссле-

дований(глава 3). В конце работа содержит общие выводы, заключение, перечень сокращений и терминов, список литературы, включающий 161 источник, в том числе 142 зарубежных. Текст диссертации изложен на 251 странице печатного текста и содержит 79 таблиц и 35 рисунков.

Глава 1 – в обзоре литературы детально освещены вопросы изучения биотрансформации лекарственных веществ. Автором проведен анализ существующих стратегий фенотипирования по активности изоферментов системы Р450 с использованием экзогенных и эндогенных маркеров. Особое внимание направлено на эндогенные субстраты СYP450, как наиболее безопасные объекты исследования. Кроме того, в главе рассмотрены варианты применения оценки активности изоферментов СYP450 на различных стадиях жизненного цикла ЛС, включая доклинические, клинические испытания и реальную клиническую практику. Исходя из результатов аналитического обзора литературы, автором сделан выбор основных изоферментов – объектов дальнейшего исследования, а также определены соответствующие сочетания (субстрат/метаболит) для фенотипирования по метаболической активности.

Глава 2 – представлены материалы и методы исследования, основные характеристики и свойства исследуемых веществ, данные внутренних стандартов, используемое оборудование и реактивы с указанием степени чистоты. В главе указаны методики отбора биологических образцов для каждого из вариантов исследования, кратко охарактеризованы условия определения субстратов и их метаболитов в биологических жидкостях отбора проб для каждого из 6 выбранных вариантов (субстрат/метаболит). Каждая из методик включает в себя требования для пробоподготовки биологических жидкостей, условия выполнения хроматографических исследований и масс-спектрометрии, а также характеристики пригодности хроматографической системы.

Глава 3 – результаты исследований, включает несколько подразделов в связи с обширностью полученных экспериментальных данных.

Первоначально автор приводит подробные результаты валидации разработанных методик количественного определения аналитов в биологических объектах. В этом разделе представлены первичные данные, хроматограммы, калибровочные кривые, которые доказывают пригодность разработанных методик.

В следующем разделе автор сравнивает разработанную им методику количественного определения эндогенных субстратов и их метаболитов в биообъектах хроматографическим методом с общепринятой методикой, основанной на дейтерированных внутренних стандартах. Особенностью авторской методики является использование исключительно анализируемого биообъекта для проведения количественного определения эндогенных веществ, а также ограничение возможных грубых ошибок с помощью статистического аппарата. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии статистически значимых отличий между результатами, полученными с помощью авторского метода и общепринятого метода с применением дейтерированных внутренних стандартов

В следующем разделе автор проводит результаты сравнения методик оценки активности одного из основных изофермента CYP3A4 с помощью отношения концентраций 6- β -гидрокортизол/кортизол и 4 β -гидроксихолестерин/холестерин. Исходя из полученных данных, в исследовании сделан вывод о возможности равноценного использования этих двух методик.

Следующий раздел главы посвящен использованию разработанных методик в доклинических исследованиях лекарственных средств. В качестве примера автор приводит исследования инновационного отечественного препарата – афобазол. С помощью разработанных в диссертационном исследовании методик автором изучено *in vivo* метаболическое отношение маркёров CYP2C9 и CYP1A2 после введения афобазола, в сравнении со стандартными индукторами и ингибиторами цитохромов, а также проведена оценка фарма-

кокинетического взаимодействия афобазола с препаратом-субстратом изофермента цитохрома P450 CYP2C9.

Последующим разделом исследования было изучение возможности использования разработанных методик в клинических исследованиях лекарственных средств. Автор приводит в качестве примера результаты клинических исследований оценки активности CYP3A4 у пациентов с глубоким тромбозом вен, которые принимали препарат ривароксабан. Вторым примером было исследование активности CYP3A4 и влияние полиморфизмов генов ABCB1 и CYP3A5 на фармакокинетику апиксабана у пациентов с мерцательной аритмией и острым инсультом. Еще одним примером клинического исследования было исследование по изучению связи метаболического соотношения омепразола в моче и полиморфизма CYP2C19 у популяции русских пациентов с язвенной болезнью желудка. Кроме того, в разделе приведены данные изучения корреляции между метаболической активностью и возрастом пациентов.

В следующем разделе третьей главы автор разбирает примеры использования разработанных методик в клинической практике с целью персонализации фармакотерапии. Методика определения активности изофермента CYP2C9 была апробирована на пациентах, находящихся на стационарном лечении в кардиологическом отделении Центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАН. В другом примере автор обосновывает рациональную фармакотерапию у больных, страдающих алкогольной зависимостью, на основе фенотипирования пациентов по активности CYP3A4 и CYP2D6.

Таким образом, содержание третьей главы дает исчерпывающие данные о перспективах разработанного подхода, который может использоваться на основных этапах жизненного цикла лекарственных средств различных фармакологических групп.

В заключении автором сформулированы четкие выводы и практические рекомендации.

Текст автореферата отражает основные результаты работы и полностью соответствует тексту диссертации.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по структуре и содержанию диссертационного исследования нет.

При знакомстве с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Каковы перспективы внедрения разработанного в диссертационном исследовании авторского метода в реальную клиническую практику?
2. Какова себестоимость предложенного автором метода оценки активности ферментов цитохрома Р 450?
3. Для каких фармакологических групп лекарственных препаратов вы считаете применение ваших методик наиболее перспективным?
4. Внедрение нового подхода к режиму дозирования препаратов позволит снизить в клинической практике частоту побочных реакций?

Данные вопросы не умаляют высокую научно-практическую значимость представленной диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Смирнова Валерия Валерьевича «Разработка комплексного подхода оценки активности основных изоферментов метаболизма лекарственных средств для изучения их фармакокинетики на различных этапах исследований *invivo*, а также персонализации фармакотерапии», представленная к защите на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена проблема создания комплексного подхода оценки активности основных изоферментов метаболизма лекарственных средств для изучения их фармакокинетики на различ-

ных этапах исследования *invivo* и персонализации фармакотерапии. Диссертационная работа соответствует требованиям п. 15 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденным приказом ректора Сеченовского Университета от 31.01.2020 г. № 0094/Р, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Смирнов Валерий Валерьевич, заслуживает присуждения искомой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук по специальности

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология, профессор,

заведующий кафедрой клинической фармакологии

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный

медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»

Минздрава России

Г.А. Батищева

194005, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10

Email: secr@vsmaburdenko.ru Тел.: (473)259-38-05

Подпись д.м.н., профессора Г.А. Батищевой удостоверяю:

Секретарь Ученого совета ФГБОУ ВО

«Воронежский государственный

медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»

Минздрава России доктор медицинских наук

Л.А. Титова

«15» декабря 2020 г.

