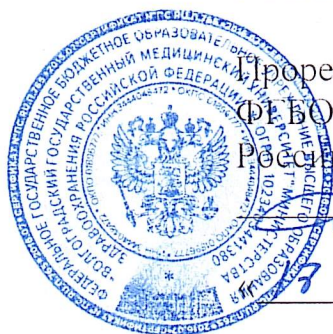


УТВЕРЖДАЮ



Проректор по научной деятельности
ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава
России, д.фарм.н.

Д.А.Бабков

» октябрь 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертации Монсеевой Екатерины Михайловны на тему: «Персонализация антиагрегантной терапии методами спектроскопии комбинационного рассеяния света и ядерного магнитного резонанса», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки), 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Актуальность темы диссертационного исследования

Разработка новых лабораторных методов для терапевтического лекарственного мониторинга представляется особо актуальным в связи с развитием концепций прецизионной и персонализированной медицины (Указ Президента Российской Федерации от 18.06.2024 N 529). Важным аспектом современной кардиологической практики является профилактика повторных тромбоэмболических событий. Двойная антиагрегантная терапия ингибитором P2Y₁₂-рецепторов (клопидогрел, тикагрелор, прасугрел) и ацетилсалициловой кислотой снижает частоту развития основных сердечно-сосудистых событий (МАСЕ) у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС). Однако в специальной литературе описаны многочисленные случаи резистентности к антиагрегантной терапии, при этом надежных методов мониторинга и диагностики этого состояния пока не предложено. Таким образом, исследование возможности персонализации антиагрегантной терапии с использованием новых неразрушающих методов представляет

интерес не только для более глубокого понимания развития эффектов антиагрегантных препаратов, но и имеет выраженную практическую направленность.

Целью диссертационной работа автор определил изучение возможности персонализации терапии антиагрегантными препаратами с использованием методов, основанных на спектроскопии комбинационного рассеяния света, и спектроскопии ^1H -ядерного магнитного резонанса.

Перспективы прогресса в лабораторной медицине в настоящее время связывают с внедрением в рутинную практику технологий, основанных на новых физических принципах. Для изучения биологических объектов автором были применены такие современные физические методы как рамановская спектроскопия и спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Разработка новых методов изучения агрегационной способности тромбоцитов востребована в клинической практике. На основе полученных автором данных могут быть выделены новые высоко информативные биомаркеры и разработаны комплексные алгоритмы персонализации антиагрегантной терапии.

В настоящее время, время интенсивного развития новых технологий, в том числе молекулярных и клеточных, особую актуальность приобрели работы по изучению новых подходов и методов, направленных на оптимизацию и персонализацию терапии пациентов.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Моисеевой Е.М. на тему: «Персонализация антиагрегантной терапии методами спектроскопии комбинационного рассеяния света и ядерного магнитного резонанса» является актуальной и своевременной.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В ходе выполнения исследования были адаптированы методы пробоподготовки биологических образцов для дальнейшего изучения с помощью спектроскопических методик. При выполнении диссертационного исследования впервые применен метод спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния с использованием оригинального биосенсора

для изучения фармакодинамики ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела у пациентов с ССЗ.

На основании исследования возможности применения спектроскопии комбинационного рассеяния света, богатой тромбоцитами плазмы, получены данные о перспективности использования наноструктурированных золотыми частицами титановых поверхностей для усиления сигнала от тромбоцитов в результате плазмонного резонанса для повышения эффективности выявления активированных клеток в плазме богатой тромбоцитами. Показаны преимущества метода гигантского комбинационного рассеяния света (ГКРС) перед традиционными технологиями.

Выявлена высокая спектральная однородность богатой тромбоцитами плазмы, полученной от одного добровольца в разные дни. Биомаркеры эффективности антиагрегантной терапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, определяемые методом спектроскопии, соответствуют интенсивностям на частотных сдвигах на 970 см^{-1} для ацетилсалициловой кислоты и 1590 см^{-1} для клопидогрела.

На основании исследования возможности применения ^1H ЯМР-спектроскопии для определения концентрации метаболитов ацетилсалициловой кислоты в моче получены данные, что с помощью этого метода возможно количественно детектировать метаболиты ацетилсалициловой кислоты для контроля комплаентности пациентов к терапии. Из метаболитов наиболее интенсивные пики соответствуют салицилуровой и гиппуровой кислотам в диапазоне от 6,6 до 6,9 ppm.

Значимость полученных соискателем результатов для развития науки и практики

Выводы и рекомендации, полученные и сформулированные в рамках диссертационного исследования Е.М.Моисеевой, имеют высокую значимость для науки и практики.

В рамках исследования установлено, что для изучения фармакодинамики антиагрегантных препаратов, метод спектроскопии комбинационного рассеяния света без усиления, мало перспективен для внедрения, поскольку сигнал, полученный от богатой тромбоцитами плазмы,

имеет низкую интенсивность. Однако метод спектроскопии с усилением, основанный на применении модифицированных фемтосекундным лазером титановых поверхностей (из наноструктурированного титана с нанесенным абляционным золотом), позволяет получить сигнал достаточной интенсивности, вероятно в результате плазменного усиления, необходимый для выявления потенциальных фармакодинамических маркеров.

Выявлены достоверные корреляции между спектрами богатой тромбоцитами плазмы и результатами агрегометрии под воздействием разных активаторов, что свидетельствует о связи изменения ГКРС-сигнала с функциональной активностью тромбоцита.

В ходе исследования была подтверждена информативность биомаркеров, выявленных методом ГКРС-спектроскопии с использованием оригинального оптического биосенсора в популяции пациентов, получавших антиагрегантные препараты, выделены пациенты с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов, то есть пациенты с высоким риском неэффективности антиагрегантной терапии. Анализ ГКРС-спектров с использованием частотных сдвигов 970 см^{-1} и 1590 см^{-1} позволяет оценивать данный показатель отдельно для ингибиторов ЦОГ и блокаторов P2Y₁₂ рецептов.

С использованием метода ¹H ЯМР-спектроскопии выявлены наиболее интенсивные пики метаболитов ацетилсалициловой кислоты (салицилуровая и гиппуровая кислоты), позволяющие верифицировать факт приема препарата в дозе 100 мг в интервале 0-24 часа.

Значимость полученных результатов для развития отрасли

На основании проведенного исследования автором были сформулированы практические рекомендации для исследователей, занимающихся проблемой персонализации антиагрегантной терапии о целесообразности использования спектроскопии комбинационного рассеяния света и спектроскопии ядерного магнитного резонанса для изучения фармакокинетики и фармакодинамики антиагрегантных препаратов. Производителям медицинского оборудования предлагается рассмотреть возможность создания лабораторного прибора для оценки фармакодинамики

антиагрегантных препаратов на основе метода спектроскопии комбинационного рассеяния света с использованием разработанного оригинального оптического сенсора.

Внедрение результатов исследования в практику

Созданная в рамках диссертационного исследования комплексная система анализа фармакокинетики и фармакодинамики АП применяется в совместной работе НОЦ «Центр Клинических Исследований» и НОЦ «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника» БФУ им. И.Канта - Проект ПРОМЕТЕЙ-Ф 427-Л-23 в рамках программы «Приоритет-2030» (акт внедрения №5-07/2023). Результаты диссертационной работы внедрены в практику научных исследований, проводимых НИЛ-96 «Фотоника» ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва» (Самарский университет) (акт внедрения №14/ф-2024).

Автором получены два патента. Патент РФ №2788479 «Планарный наноструктурированный сенсор на основе поверхностного плазмонного резонанса для усиления комбинационного рассеяния света тромбоцитов человека и способ его получения» и патент РФ №2023618212 «Программа классификации массивов спектров комбинационного рассеяния света тромбоцитов человека» Материалы внедрены в практику работы лаборатории ООО «МЦ Медэксперт Л.Д.» (акт внедрения №14-03/2023), в практику работы ГБУЗ КО «Центральная городская клиническая больница» (акт внедрения №24), а также в практику работы ООО «МЦ Медэксперт-4» (акт внедрения №24/2024).

Основные положения работы включены в программу лекций и семинаров при проведении занятий со студентами по дисциплине «Клиническая фармакология» на кафедре терапии Медицинского института ФГАО ВО БФУ им. И.Канта (акт внедрения №3-07/2023).

Личный вклад автора

Диссертационная работа представляет собой самостоятельный труд автора. Ведущая роль в проведении диссертационного исследования принадлежит Моисеевой Е. М. Автором самостоятельно проведен

аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы, совместно с научными руководителями автор сформулировал цель и задачи исследования. Автором разработан протокол исследования, информированное согласие участников исследования, получено одобрение локального этического комитета. Мосеева Е.М участвовала во всех этапах клинического обследования здоровых добровольцев и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, контролировала процесс получения биологических образцов и проводила их пробоподготовку для последующего изучения, провела статистическую обработку, сформулировала выводы и практические рекомендации. Автор непосредственно принимал участие во всех этапах исследования: от теоретической и практической реализации поставленных задач до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

В диссертационной работе корректно сформулированы цель и соответствующие ей задачи исследования, определены источники данных, на основании которых проводился анализ. Объективность и достоверность результатов исследования определяется научно проработанной методикой, большим объемом исследований, детальным анализом полученных результатов, корректной оценкой научных данных с использованием современного статистического инструментария.

Полнота изложения результатов диссертационного исследования в опубликованных работах

По результатам диссертационного исследования опубликовано 17 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 12 - в изданиях, индексируемых в Web of Science, Scopus, получены два патента на изобретение.

Оценка структуры и содержания работы, ее завершенности

Автор представил результаты исследования в традиционной последовательности – введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, описание и обсуждение результатов собственных исследований. Завершается работа заключением, формулированием выводов исследования и практическими рекомендациями. Основное содержание работы изложено на 134 страницах машинописного текста, работа иллюстрирована 28 рисунками и 8 таблицами. Библиографический список использованной литературы содержит 179 источников, из них 113 отечественный и 66 зарубежных. Завершается диссертация 4 приложениями с рабочими таблицами.

Работа имеет внутреннее единство и содержит совокупность новых научных результатов, полученных автором.

Автореферат составлен в соответствии с требованиями, полностью отражает содержание работы, отражает ее основные положения, результаты, выводы и практические рекомендации.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по представленной диссертационной работе нет, однако, при прочтении диссертации возникло несколько вопросов:

1. Почему для получения богатой тромбоцитами плазмы в качестве антикоагулянта выбрали ЭДТА, в то время как известно, что это вещество вызывает повреждения тромбоцитов (White J.G. EDTA-induced changes in platelet structure and function Clot retraction DOI:[10.1080/09537100075805](https://doi.org/10.1080/09537100075805); Цветкова Т. Г. Тишко А. Н. Лабораторный феномен ЭДТА-индуцированной агрегации тромбоцитов//Вестник гематологии -2018. -Том14.-№3. с.33-36) Возможно ли, что уменьшение количества пиков на спектрограмме ГКРС (рис. 10 А, с.60) обусловлено токсическим действием ЭДТА на тромбоциты?
2. Пусковые механизмы, молекулярные и клеточные процессы, сопровождающие активацию и агрегацию тромбоцитов подробно описаны в литературе. Не могли бы Вы предположить какие именно конкретные молекулярные и субклеточные феномены приводят к изменениям в рамановских спектрах и особенно SERS? То есть, на наш взгляд, требуется

объяснение возможности классификации активированных/неактивированных тромбоцитов без применения индукторов, а только по результатам спектроскопии.

3. Чем вы объясните, что пациенты, включенные в третью группу, имея высокий риск сердечно-сосудистых осложнений, не получали антиагрегантную терапию?

Следует подчеркнуть, что вопросы носят дискуссионный характер и ответы на них не могут повлиять на позитивное впечатление от работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Моисеевой Екатерины Михайловны «Персонализация антиагрегантной терапии методами спектроскопии комбинационного рассеяния света и ядерного магнитного резонанса», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Рафальского Владимира Витальевича и доктора медицинских наук, профессора Ройтмана Александра Польевича, по своей актуальности, научно-методическому уровню, новизне и значимости полученных результатов является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи для теории и клинической практики – изучение возможности персонализации терапии антиагрегантными препаратами с использованием методов, основанных на спектроскопии комбинационного рассеяния света, и спектроскопии ^1H -ядерного магнитного резонанса.

Диссертационная работа Моисеевой Екатерины Михайловны соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 «О порядке присуждения ученых степеней» (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки), 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Отзыв подготовлен доктором медицинских наук, доцентом, профессором кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России Шаталовой Ольгой Викторовной и доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России Островским Олегом Владимировичем. Отзыв обсужден и утвержден на совместном заседании кафедры фундаментальной и клинической биохимии и проблемной комиссии «Теоретическая и клиническая фармакология. Интенсивная терапия», протокол № 4/10 от 4 октября 2024 года.

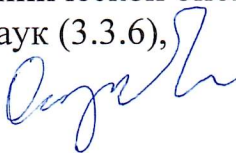
Отзыв составили:

Профессор кафедры клинической
фармакологии и интенсивной терапии,
доктор медицинских наук (3.3.6),
доцент



Шаталова Ольга Викторовна

Заведующий кафедрой
фундаментальной и клинической биохимии,
доктор медицинских наук (3.3.6),
профессор



Островский Олег Владимирович

Подпись доктора медицинских наук, доцента Шаталовой Ольги Викторовны
и доктора медицинских наук, профессора Островского Олега Владимировича
заверяю

Ученый секретарь Ученого совета ВолгГМУ
к.м.н, доцент



Емельянова Ольга Сергеевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400066, Российская Федерация, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, зд. 1, тел.: +7 (8442) 38-50-05, e-mail: post@volgmed.ru