

**В. И. Петров¹, И. С. Аникеев^{1,✉}, А. В. Стрыгин^{1,2}, А. М. Доценко^{1,2},
Т. Е. Заячникова¹, Ю. С. Казьмина¹**

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

² Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия

✉ anikeivan@yandex.ru

ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДА «ВЫСУШЕННОЙ КАПЛИ КРОВИ» ДЛЯ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ

Аннотация. Многие лекарственные препараты для иммуносупрессивной терапии имеют узкий диапазон между минимальной терапевтической и токсической дозой. Для контроля за концентрацией данных лекарственных препаратов, обладающих узким терапевтическим диапазоном, и проведения эффективной и безопасной фармакотерапии проводится терапевтический лекарственный мониторинг, который требует сбора большого количества биообразцов. Однако на сегодняшний день проведение ТЛМ связано с различными затруднениями, которые не позволяют произвести отбор необходимого количества образцов у той или иной группы пациентов. И для решения данных трудностей разрабатываются более удобные и менее инвазивные методы сбора биологического материала, одним из которых является метод «высушенной капли крови». Сбор биообразцов с использованием метода «высушенной капли крови» достаточно прост и не требует специальных навыков флеботомии, при этом данные образцы могут храниться в комнатных условиях без использования специального холодильного оборудования. Это создает ряд преимуществ перед стандартными методами отбора биообразцов. Однако данная технология не лишена недостатков, которые необходимо преодолеть для использования данной методики в терапевтическом лекарственном мониторинге иммуносупрессивных препаратов с узким терапевтическим диапазоном.

Ключевые слова: метод «высушенной капли крови», терапевтический лекарственный мониторинг, биоанализ, иммуносупрессанты

Финансирование: работа поддержана РНФ (проект № 22-25-20207).

VOLGOGRAD SCIENTIFIC AND MEDICAL JOURNAL. 2023. VOL. 20, NO. 3. P. 54–57.

ORIGINAL ARTICLE

V. I. Petrov¹, I. S. Anikeev^{1,✉}, A. V. Strygin^{1,2}, A. M. Docenko^{1,2}, T. E. Zayachnikova¹, U. S. Kazmina¹

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

² Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia

✉ anikeivan@yandex.ru

BENEFITS OF THE DRIED BLOOD SPOT METHOD FOR IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY

Abstract. Many drugs for immunosuppressive therapy have a narrow range between the minimum therapeutic and toxic dose. To control the concentration of these drugs, which have a narrow therapeutic range, and to provide effective and safe pharmacotherapy, therapeutic drug monitoring is carried out, which requires the collection of a large number of biosamples. However, to date, TDM is associated with various difficulties that do not allow the selection of the required number of samples from a particular group of patients. And to solve these difficulties, more convenient and less invasive methods for collecting biological material are being developed, one of which is the “dried blood drop” method. The collection of biosamples using the “dried blood drop” method is quite simple and does not require special phlebotomy skills, while these samples can be stored in room conditions without the use of special refrigeration equipment. This creates a number of advantages over standard biosampling methods. However, this technology is not without drawbacks that must be overcome in order to use this technique in therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs with a narrow therapeutic window.

Keywords: dried blood spot, therapeutic drug monitoring, bioanalysis, immunosuppressants

Funding: the work was supported by the RGNF (project No. 22-25-20207).

Основной принцип, лежащий в основе успешной иммуносупрессивной терапии, заключается в достижении баланса между достаточностью для подавления реакции отторжения (иммуносупрессии) и предотвращением чрезмерного подавления иммунитета, вследствие которого могут развиваться инфек-

ционные осложнения, а в более позднем периоде и онкологические заболевания. Учитывая, что многие иммуносупрессивные препараты обладают достаточно узким диапазоном между желаемым терапевтическим эффектом и нежелательными реакциями необходимо для применения данных лекарственных препара-

тов использование терапевтического лекарственного мониторинга [1, 2].

На сегодняшний день для успешного применения ТЛМ для различных классов лекарственных средств разрабатываются новые технологии. Одной из таких технологий является «высушенная капля крови», которая основана на использовании нескольких капель, нанесенных на специальную бумагу с последующей сушкой и анализом. Данный способ сбора биообразцов обладает существенными преимуществами перед традиционным сбором образцов крови для терапевтического лекарственного мониторинга [2].

Образцы, полученные данным способом, совместимы с большинством известных биоаналитических методик, что позволяет применять данную в существующих реалиях на уже имеющемся оборудовании. При этом «высушенная капля» – это универсальная матрица. Все, что может быть проанализировано из жидкой цельной крови, плазмы или сыворотки, может быть проанализировано и в образцах «высушенной капли» [3, 4].

При использовании оптимизированной пробоподготовки и метода анализа образцов, «высушенная капля» может иметь широкое применение в доклинических и клинических исследованиях, терапевтическом и токсикологическом мониторинге лекарственных средств, а также в крупных эпидемиологических исследованиях. DBS представляет экономически-эффективную модель анализа лекарственных средств и может обеспечить столь необходимые фармакокинетические результаты достаточно эффективным и надежным способом [4, 5].

Сбор биообразцов с использованием метода «высушенной капли крови» достаточно прост и не требует специальных навыков флеботомии, при этом данные образцы могут храниться в комнатных условиях без использования специального холодильного оборудования. Все это дает предпосылки для последующего возможного отбора образцов цельной крови на дому и отправкой их в аналитическую лабораторию для последующего анализа, что значительно облегчит данную процедуру всем пациентам, принимающим иммуносупрессанты для которых необходим ТЛМ [3].

ПРЕИМУЩЕСТВА ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИЕЙ

Из-за узкого терапевтического диапазона иммунодепрессантов и значительной индивидуальной вариабельности терапевтический лекарственный мониторинг данных лекарственных средств является важным инструментом, помогающим врачам находить баланс между субтерапевтическими и потенциально токсичными концентрациями этих препаратов [6]. Такой мониторинг необходим на протяжении всей жизни данной группы пациентов, они должны регулярно посещать больницу для взятия анализа образцов крови [7]. Метод «высушенной капли» был бы очень полезен для проведения мониторинга иммуносу-

прессивной терапии, когда пациенты должны часто сдавать биообразцы в течение длительного периода времени, что вызывает необходимость нахождения таких пациентов в клинике достаточно долгое время. Эту проблему можно избежать, если производить отбор образцов крови на дому. Метод высушенной капли крови имеет такую возможность. Капля крови после прокола пальца может быть собрана на специальную карту в домашних условиях и отправлена в лабораторию по почте [8]. Такой способ со временем может сократить количество наблюдений за пациентами с использованием метода «высушенной капли крови», сэкономив время пациента и медицинских работников [9].

Домашний сбор биообразцов с использованием метода «высушенной капли» может обеспечить оптимальное время отбора проб, что часто трудно осуществить при посещении медицинских учреждений, так как образцы могут быть получены в необходимые временные точки после принятия препарата.

Правильное время сбора образцов очень важно для хорошей интерпретации воздействия иммуносупрессантов, особенно при измерении минимальной концентрации [10]. С обычным отбором проб во время амбулаторного посещения трудно уловить этот момент времени, так как пациенты обычно принимают препараты рано утром, до посещения поликлиники. С домашним пробоотбором эта минимальная концентрация может быть получена, что облегчит интерпретацию результатов лечащим врачам.

Как пример, одним из таких препаратов является эверолимус. Он используется не только как иммуносупрессант, но и как препарат, назначаемый при лечении злокачественных новообразований в почках, легких, поджелудочной и молочной железе, органах пищеварительной системы. Однако применение эверолимуса серьезно затруднено из-за его токсичности, узкого терапевтического индекса и большой вариабельности фармакокинетики между пациентами [10]. При этом проведение терапевтического лекарственного мониторинга для индивидуализации режима дозирования и оптимизации лечения конкретных больных с помощью стандартного отбора образцов венозной крови имеет многие сложности, а метод «высушенной капли крови» позволяет облегчить отбор проб у пациента для ТЛМ, поскольку он минимально инвазивен и достаточно прост [11].

Группой исследователей была проведена валидация метода количественного определения эверолимуса в образцах «высушенной капли», а также сравнение полученных данных с данными, полученными в образцах венозной крови.

Данное исследование показало, что новый метод является приемлемым для определения эверолимуса у пациентов с опухолевыми заболеваниями, а различие в концентрациях данного лекарственного препарата в образцах «высушенной капли крови» и в образцах венозной крови находятся в пределах

клинической значимости. При этом у 70 % пациентов была произведена корректировка минимальных концентраций эверолимуса, которые выходили за пределы предложенного терапевтического диапазона, что может существенно улучшить эффективность данного лечения [12].

При этом выше перечисленные преимущества и в первую очередь возможность сбора образцов на дому могут обеспечить существенные экономические выгоды как для пациентов, так и для исследовательских лабораторий.

Так, L. C. Martial и др. провели исследования, которые показали, что для детей с трансплантацией почки, получавших иммуносупрессанты, общие затраты на обычный отбор проб составили около 259 € за один образец, общие затраты на домашний отбор проб составили 102 € за образец. Для пациентов с болезнями почек домашний отбор проб DBS приводит к экономии 23 € на каждого пациента. Данная разница обусловлена снижениями затрат, связанными с потраченным временем родителей, которые сопровождают своих детей в госпиталь для отбора образцов. Общие затраты обычного отбора проб у детей, принимающих азоловые проивогрибковые агенты, составляет 277 €, тогда как домашний отбор проб составляет 158 €. Различия между обоими методами в основном связано со снижением затрат пациентов на медицинские услуги и уменьшением траты времени [10].

НЕДОСТАТКИ МЕТОДА

Данный способ сбора биообразцов и их пробоподготовки конечно же имеет значительные преимущества перед стандартными методами. Однако на сегодняшний день существуют значительные ограничения данной технологии, не позволяющие использовать её в широкой медицинской и аналитической практике. Одним из основных таких недостатков, ограничивающий использование «высушенной капли крови» в терапевтическом лекарственном мониторинге иммуносупрессантов, является необходимость в обширной валидации и понимания влияния новых, специфических параметров валидации на результаты лабораторного анализа.

Следует понимать влияние изменений значений гематокрита на размер и однородность капли на фильтровальной бумаге. Требуется изучение различных типов фильтровальной бумаги [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для успешного проведения иммуносупрессивной терапии необходимо применение терапевтического лекарственного мониторинга с использованием новых технологий, обладающих существенными преимуществами перед стандартным методом забора венозной крови. Таким методом является метод «высушенной капли крови», который позволяет обойти ограничения, связанные со сбором венозной крови и сделать терапевтический лекарственный мо-

нитинг более удобным, простым и экономически выгодным как для пациентов, так и для исследовательских лабораторий. Но на сегодняшний день есть ряд ограничений, не позволяющих применить данный метод в широкой медицинской практике. Однако последующие исследования, над которыми работают ученые по всему миру, позволят преодолеть данные ограничения и успешно применить данную технологию непосредственно для терапевтического лекарственного мониторинга иммуносупрессантов. А также воспользоваться всеми её преимуществами перед стандартными методами сбора биообразцов и их последующей пробоподготовки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лакман И. А., Халикова А. А., Корженевский А. А. Оценка влияния различных исходов операции трансплантации почки на экономические затраты при лечении хронической болезни почек. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2018;62(2):60–67.
2. Гендугов Т. А., Глушко А. А., Озеров А. А., Щербанова Л. И. Разработка и валидация методики количественного определения субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она методом потенциометрического титрования в неводной среде. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2019;4:39–42.
3. Capiau S., Veenhof H., Koster R. A. Official International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Guideline: Development and Validation of Dried Blood Spot-Based Methods for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit*. 2019;4:409–430. doi: 10.1097/FTD.0000000000000643. PMID: 31268966.
4. Chernonosov A. The Use of Dried Blood Spots for the Quantification of Antihypertensive Drugs. *Int J Anal Chem*. 2018;1:3235072. doi: 10.1155/2018/3235072.
5. Goločorbin-Kon S. Dried blood spot: Utilising dry blood for pharmacokinetic investigations – An old method with great future for therapeutic drug monitoring. *Vojnosanit. Pregl. Inst. Sci. inf., Univ. Defence in Belgrade*. 2018;126:1222–1225. <http://doi.org/10.2298/VSP170130046G>
6. Kazanova A. M., Chenkurov M. S., Kopaylo A. A. et al. Determination of the Effectiveness of Antibiotic Therapy by Conducting Therapeutic Drug Monitoring. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2020;65(3-4):29–33. (In Russ.).
7. Le J., Poindexter B., Sullivan J. E. et al. Comparative Analysis of Ampicillin Plasma and Dried Blood Spot Pharmacokinetics in Neonates. *Ther Drug Monit*. 2018;1:103–108. doi: 10.1097/FTD.0000000000000466.
8. Zava T. T., Zava D. T. Validation of dried blood spot sample modifications to two commercially available COVID-19 IgG antibody immunoassays. *Bioanalysis*. 2021;1:13–28. doi: 10.4155/bio-2020-0289.
9. Смирнов А. П. Экономическая эффективность трансплантации почки в сравнении с программным гемодиализом у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017;9:31–33.
10. Sulochana S. P., Daram P., Srinivas N. R., Mullangi R. Review of DBS methods as a quantitative tool for anticancer drugs. *Biomed Chromatogr*. 2019:e4445. doi: 10.1002/bmc. 4445.
11. Кузнецов К. А., Магницкая О. В., Смирнова Л. А. и др. Терапевтический лекарственный мониторинг с ис-

пользованием методов *in silico*. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2013;3(39):59–61.

12. Zhang Y., Zhang R. Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Drug Test Anal.* 2018;1:81–94.

REFERENCES

1. Lakman I. A., Khalikova A. A., Korzhenevsky A. A. Evaluation of the impact of various outcomes of kidney transplantation on economic costs in the treatment of chronic kidney disease. *Zdravoohranenie Rossijskoj Federacii = Health of the Russian Federation*. 2018;62(2):60–67. (In Russ.).

2. Gendugov T. A., Gpushko A. A., Ozerov A. A., Shcherbakova L. I. Development and validation of a method for the quantitative determination of the substance 3-[2-(4-phenyl-1-piperazino)-2-oxoethyl]-quinazolin-4(3H)-one by potentiometric titration in a non-aqueous medium. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal = Volgograd Medical Scientific Journal*. 2019;4:39–42. (In Russ.).

3. Capiou S., Veenhof H., Koster R. A. Official International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Guideline: Development and Validation of Dried Blood Spot-Based Methods for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit.* 2019;4:409–430. doi: 10.1097/FTD.0000000000000643. PMID: 31268966.

4. Cheronosov A. The Use of Dried Blood Spots for the Quantification of Antihypertensive Drugs. *Int J Anal Chem.* 2018;1:3235072. doi: 10.1155/2018/3235072.

5. Goločorbin-Kon S. Dried blood spot: Utilizing dry blood for pharmacokinetic investigations – An old method with great future for therapeutic drug monitoring. *Vojnosanit. Pregl.*

Inst. sci. inf., Univ. Defense in Belgrade. 2018;12:1222–1225. <http://doi.org/10.2298/VSP170130046G>

6. Kazanova A. M., Chenkurov M. S., Kopaylo A. A. et al. Determination of the Effectiveness of Antibiotic Therapy by Conducting Therapeutic Drug Monitoring. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2020;65(3-4):29–33. (In Russ.) <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-29-33>

7. Le J., Poindexter B., Sullivan J. E. et al. Comparative Analysis of Ampicillin Plasma and Dried Blood Spot Pharmacokinetics in Neonates. *Ther Drug Monit.* 2018;1:103–108. doi: 10.1097/FTD.0000000000000466.

8. Zava T. T., Zava D. T. Validation of dried blood spot sample modifications to two commercially available COVID-19 IgG antibody immunoassays. *Bioanalysis*. 2021;1:13–28. doi: 10.4155/bio-2020-0289.

9. Smirnov A. P. Cost-effectiveness of kidney transplantation in comparison with program hemodialysis in patients with end-stage chronic renal failure. *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal = International Research Journal*. 2017;09:31–33. (In Russ.).

10. Sulochana S. P., Daram P., Srinivas N. R., Mullangi R. Review of DBS methods as a quantitative tool for anticancer drugs. *Biomed Chromatogr.* 2019;1:e4445. doi: 10.1002/bmc.4445. PMID: 30512220.

11. Kuznetsov K. A., Magnitskaya O. V., Smirnova L. A. et al. Therapeutic drug monitoring using *in silico* methods. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal = Volgograd Medical Scientific Journal*. 2013;3(39):59–61. (In Russ.).

12. Zhang Y., Zhang R. Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Drug Test Anal.* 2018;1:81–94. doi: 10.1002/dta.2290.

Информация об авторах

Владимир Иванович Петров – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой; главный внештатный специалист – клинический фармаколог Министерства здравоохранения РФ, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ, brain@sprintnet.ru, ORCID ID: 0000-0002-0258-4092

Иван Сергеевич Аникеев – заведующий лабораторией фармакокинетики НЦИЛС ВолгГМУ, anikeivan@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0002-9384-4338

Татьяна Евгеньевна Заячникова – кандидат медицинских наук, доцент, профессор, guz5deti@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-6758-4686

Андрей Валерьевич Стрыгин – кандидат медицинских наук, доцент, drumsav@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-6997-1601

Анна Михайловна Доценко – ассистент кафедры фундаментальной медицины и биологии, ev8278@mail.ru, ORCID ID: 0000-0003-3324-3351

Юлия Сергеевна Казьмина – лаборант кафедры, iulijakazmina@gmail.com

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 19.04.2023; одобрена после рецензирования 14.07.2023; принята к публикации 14.08.2023.

Information about the authors

Vladimir I. Petrov – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Head of the Department, Volgograd State Medical University; director of Scientific Centre of Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University; Chief freelance specialist – a clinical pharmacologist of the Ministry of Health of the Russian Federation; Honored Scientist of the Russian Federation; Honored Doctor of the Russian Federation, brain@sprintnet.ru, ORCID ID: 0000-0002-0258-4092

Ivan S. Anikeev – Head of the Laboratory of Pharmacokinetics, anikeivan@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0002-9384-4338

Tatyana E. Zayachnikova – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, guz5deti@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-6758-4686

Andrey V. Strygina – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Fundamental Medicine and Biology, drumsav@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-6997-1601

Anna M. Dotsenko – Assistant, ev8278@mail.ru, ORCID ID: 0000-0003-3324-3351

Yuliya S. Kazmina – laboratory assistant, iulijakazmina@gmail.com

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted on 19.04.2023; approved after reviewing 14.07.2023; accepted for publication 14.08.2023.