

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук Калёкина Романа Анатольевича на диссертационную работу Колгановой Марии Алексеевны на тему: «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования

Обеспечение качественной фармацевтической помощи населению и повышение доступности лекарственной терапии для пациентов было и остается одной из приоритетных задач современной фармации. Стратегически важным аспектом развития отечественной фармацевтической промышленности является разработка, регистрация и вывод на фармацевтический рынок как инновационных, так и воспроизведенных лекарственных препаратов (ЛП), включая препараты-биоаналоги. Особенно актуальным вопрос доступности различных видов лекарственной терапии остается для онкобольных, поскольку онкологические заболевания занимают одну из лидирующих позиций в списке основных причин смертности во всем мире.

В диссертационной работе Колгановой М.А. основным объектом исследования является препарат трастузумаб – гуманизированные моноклональные антитела, селективно связывающие рецептор эпидермального фактора роста 2 типа (HER2), гиперэкспрессия которого способствует метастазированию клеток рака молочной железы – первого по распространенности типа рака среди женщин в России и мире. В проведенном исследовании выполнена разработка двух независимых биоаналитических методик, основанных на методе иммуноферментного анализа (ИФА), позволяющих оценить фармакокинетику и иммуногенность молекулы

трастузумаба при проведении сравнительных клинических исследований биоаналогичности. Учитывая тот факт, что данные методики способствуют процессу регистрации отечественного биоаналогового лекарственного препарата «Трастузумаб», а следовательно, направлены на повышение доступности HER-2 направленной терапии с доказанной эффективностью для пациенток на территории Российской Федерации, тема выполненного диссертационного исследования представляется крайне актуальной для нужд современной медицины и фармации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основные научные положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации, представленные в диссертационной работе обоснованы, подтверждены достаточным количеством собранных автором данных, а также сопровождаются обсуждением полученных результатов. Все сформулированные автором выводы и рекомендации напрямую основаны на полученных результатах собственных исследований, а также полностью согласуются с поставленной целью и задачами исследования. Для получения экспериментальных данных использованы современные методы анализа, выбор которых подкреплён систематическим анализом литературы по теме исследования. Для статистической обработки полученных данных применяются общепринятые подходы, рекомендованные актуальной нормативной документацией Евразийского экономического союза, регулирующей проведение биоаналитических исследований, а также сравнительных клинических исследований биоаналогичности на территории Российской Федерации.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

Достоверность полученных результатов диссертационного исследования обеспечивается достаточным объемом выполненных экспериментальных работ, в ходе которых для получения искомых данных было использовано сертифицированное оборудование с действующим статусом поверки.

Разработанные биоаналитические методики успешно валидированы в полном соответствии со всеми актуальными требованиями релевантной нормативной документации. Выбранные методы и подходы к статистической обработке данных как на этапе валидации методик, так и на этапе расчета фармакокинетических параметров и установления биоаналогичности препаратов адекватны поставленным целям и являются общепринятыми для поставленных задач.

Научная новизна исследования заключается в разработке методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в сыворотке крови человека, с помощью которых изучена фармакокинетика и иммуногенность отечественного препарата-биоаналога «Трастузумаб». При этом разработанная методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител, используемая для оценки иммуногенности, дополнена специальной пробоподготовкой исследуемых биологических образцов, благодаря которой повышается вероятность идентификации антител к трастузумабу даже в случае высоких концентраций препарата в крови.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Разработанные автором биоаналитические методики и, в особенности, методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу в сыворотке крови человека методом ИФА, могут выступать в роли теоретической базы для разработки аналогичных методик для других биологических препаратов на основе технологии моноклональных антител. Подходящим вариантом для других биологических препаратов, в том числе биоаналоговых, может служить и пробоподготовка биологических образцов с кислотной диссоциацией и аффинным отделением интерферирующих компонентов при анализе иммуногенности, поскольку данный метод является достаточно простым и вместе с тем действенным способом разрушить комплексы «препарат – анти-лекарственное антитело», образующиеся при введении в организм практически любых биологических ЛП, учитывая их

высокомолекулярную структуру. Все это обуславливает теоретическую значимость проведенного исследования.

Практическая значимость работы обусловлена внесением полученных результатов исследования в регистрационное досье препарата «Трастузумаб», производства общества с ограниченной ответственностью «Мабскейл», что способствует его регистрации, а, следовательно, направлено на импортозамещение биологической HER-2 направленной терапии и повышение ее доступности для пациенток на территории Российской Федерации. Кроме того, разработанные методики были внедрены в научно-практическую деятельность профильных организаций: общества с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» и исследовательского центра общества с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс», о чем свидетельствуют соответствующие акты внедрения, представленные автором в приложении.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Основные результаты, выводы и научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, пункту 4, а также паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, пункту 11.

Полнота освещения результатов диссертации

По теме диссертационной работы автором опубликовано 8 печатных работ, из которых 4 научные статьи размещены в изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus, 1 публикация входит в сборник материалов международной научной-практической конференции, а также 3 иные статьи по теме диссертации, включая одну обзорную.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа изложена на 142 страницах, проиллюстрирована 10 рисунками и 23 таблицами (21 таблица в основной части работы и 2 в

приложении). Текст диссертации состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, основных результатов и их обсуждения, общих выводов, заключения, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы и двух приложений. Список литературы, использованной автором, включает в себя 101 источник, 32 из которых на русском языке, остальные на иностранном.

Во **Введении** сформулированы основные цели и задачи исследования, дано обоснование актуальности рассматриваемой темы, указана её научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Представлена информация об апробации полученных результатов, личном вкладе автора, а также о публикациях, подготовленных диссертантом по материалам проведенного исследования.

Глава 1, посвященная обзору литературных источников по теме диссертации, содержит полную характеристику молекулы трастузумаба, его структуры и основных свойств, а также препаратов-биоаналогов на его основе, представленных на мировом фармацевтическом рынке на различных стадиях жизненного цикла ЛП. Подробно рассмотрены требования к разработке и регистрации препаратов-биоаналогов, а также существующие подходы к определению трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах.

Вторая глава содержит перечень всех материалов, реактивов и оборудования, использованных в исследовании, а также включает в себя полное описание разработанных методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к препарату, основных аспектов дизайна, проведенного сравнительного клинического исследования I фазы и использованных в работе методов статистической обработки полученных данных.

В **Главе 3** представлены результаты собственных исследований. В начале главы описывается разработка и валидация биоаналитических методик количественного определения трастузумаба и полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу в сыворотке крови человека

методом ИФА. Разработанная методика количественного определения обладает широким аналитическим диапазоном, охватывающим концентрации от 3 до 300 мкг/мл трастузумаба, при этом выбранная регрессионная модель описывает зависимость оптической плотности от концентрации трастузумаба с высокой степенью корреляции (рассчитанные значения R^2 составили не ниже 0,99). Методика полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу валидирована сразу в двух форматах (скрининга и подтверждающего анализа) и демонстрирует высокую устойчивость в отношении интерферирующего трастузумаба, обусловленную кислотной диссоциацией образцов сыворотки крови с дальнейшим отделением мешающего ЛП с помощью твердой фазы. Кроме того, она характеризуется высокой чувствительностью, селективностью, прецизионностью получаемых значений, а также подтверждает стабильность изучаемых анти-лекарственных антител к трастузумабу при различных условиях хранения в составе сыворотки крови человека.

Последующие разделы третьей главы описывают проведение аналитической части сравнительного клинического исследования фармакокинетики и иммуногенности отечественного биоаналога «Трастузумаб» и оригинального препарата «Герцептин[®]» при однократном внутривенном введении здоровым добровольцам, выполненной с использованием разработанных и валидированных методик. Данные о концентрации трастузумаба, а также о наличии или отсутствии анти-лекарственных антител к препарату, полученные в ходе анализа образцов сыворотки крови добровольцев, использованы для оценки иммуногенности и установления биоаналогичности (фармакокинетической эквивалентности) сравниваемых препаратов.

В заключении и выводах все полученные автором результаты кратко представлены в обобщенном виде, что позволяет заключить, что тема исследования полностью раскрыта, основные задачи решены и поставленная цель достигнута.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат включает в себя краткое описание основных результатов, полученных в ходе проведения диссертационного исследования, а также полностью отражает содержание работы и соответствует её основным разделам.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Выполненная Колгановой М.А. диссертационная работа безусловно обладает ценностью не только для академической науки, но и для практических аспектов современной фармации. Однако в ходе ознакомления с работой возникло несколько вопросов и замечаний:

1. На стр. 67 указано выбранное значение нижнего предела количественного определения (НПКО) с концентрацией 3 мкг/мл трастузумаба. На основании чего было выбрано данное значение, как оно было установлено и находится ли НПКО в диапазоне реальных терапевтических и субтерапевтических концентраций?

2. На стр. 71 приведено подтверждение селективности разработанной методики при использовании 10 индивидуальных образцов интактной сыворотки крови человека, полученных из разных источников (взятых у 10 добровольцев). Из каких источников взяты данные образцы и как селективность учитывалась при сопутствующих заболеваниях, на фоне которых изменяется уровень антител и белков (иногда многократно по отношению к норме)?

3. На стр. 72 указан аналитический диапазон валидированной методики количественного определения трастузумаба, который составил от 3 до 300 мкг/мл трастузумаба в нативной (неразбавленной) сыворотке крови человека. Насколько это соотносится с субтерапевтическими, терапевтическими, токсическими и летальными дозами?

4. Почему для определения специфичности были выбраны именно моноклональные антитела цетуксимаб и бевацизумаб? Почему не изучалась специфичность по отношению к лекарственным препаратам, применяемым в комплексной терапии с трастузумабом?

5. Возможно, было бы лучше и более логично по тексту сначала расположить описание методики полуколичественного определения анти-лекарственных антител к трастузумабу, а затем методики количественного определения препарата, а не наоборот.

6. Как Вы объясните, что при исследовании значений концентрации трастузумаба (мкг/мл) в сыворотке крови добровольцев после однократного введения исследуемого препарата – Трастузумаб, (ООО «Мабскейл», Россия) и препарата сравнения – Герцептин® (Ф. Хоффман-Ля Рош Лтд., Швейцария), максимальная концентрация при использовании первого препарата наблюдалась через 3 часа, а у второго через 1,5 часа?

Тем не менее, вышеописанные вопросы и замечания носят рекомендательный и дискуссионный характер, не являются критическими и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Колгановой Марии Алексеевны на тему: «Разработка методик определения трастузумаба и анти-лекарственных антител к трастузумабу в биологических объектах методом ИФА» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи в области разработки методик для аналитического сопровождения клинических исследований биоаналогичности препаратов моноклональных антител. По актуальности, степени научной новизны, теоретической и практической значимости диссертационная работа соответствует требованиям п. 16 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), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом ректора № 1179 от 29.08.2023 г.,

приказом Сеченовского Университета № 0787/Р от 24.05.2024 г.),
предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Колганова Мария
Алексеевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по
специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и
3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Доктор фармацевтических наук
(3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),
заведующий лабораторией судебно-химических и химико-токсикологических
исследований федерального государственного бюджетного учреждения
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр
судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской
Федерации

адрес: 125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13

тел. +7 (495) 945 21-69

e-mail: mail@rc-sme.ru

Калёкин Роман Анатольевич

(подпись)

Подпись Калёкина Романа Анатольевича заверяю
Начальник отдела кадров ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России



Кухоль Татьяна Николаевна

«26» 12 2024