

На правах рукописи

Казанова Александра Михайловна

**ОСОБЕННОСТИ НАЗНАЧЕНИЯ β -ЛАКТАМНОГО
АНТИБИОТИКА МЕРОПЕНЕМА У НЕДОНОШЕННЫХ
НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ**

14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук**

Москва – 2020

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» на кафедре общей и клинической фармакологии медицинского института.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Зырянов Сергей Кенсаринович

Научный консультант:

доктор биологических наук

Бондарева Ирина Борисовна

Официальные оппоненты:

Гильдеева Гэлия Нязыфовна, доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств Института профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Постников Сергей Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «» 2020 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.001 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 и на сайте организации dissovet.rudn.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Учёный секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.001,
кандидат фармацевтических наук

Морозова М.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Недоношенные новорожденные являются группой высокого риска по развитию инфекционных осложнений, что обусловлено незрелостью механизмов противоинфекционной защиты и высокой частотой проведения инвазивных процедур в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Смертность от ранних инфекций достигает 40 %, что в 3 раза превышает таковую у недоношенных новорождённых при отсутствии инфекции [Иванов Д.О., 2016]. Распространенность бактериемии, генерализованной бактериальной инфекции и сепсиса у недоношенных находится в диапазоне от 10 до 50 %. При этом этиологические агенты различаются в зависимости от времени развития инфекции [Колбин А.С., 2008]. Для лечения тяжёлых инфекционных заболеваний, вызванных различными возбудителями [Khaertynov K. S., 2018], достаточно широко используется препарат выбора, антибиотик группы карбапенемов – меропенем. Несмотря на то, что данный антибактериальный препарат используется в неонатологии off-label («вне инструкции»), результаты ряда исследований по оценке безопасности и эффективности применения меропенема среди недоношенных новорожденных свидетельствуют о возможности его назначения и этой особой категории пациентов [De Cunto A., 2007; De Keukeleire S., 2016; Pacifici G. M., 2016; Pacifici G. M., 2019].

В плане фармакокинетики недоношенные новорожденные считаются особой популяцией в связи с анатомическими, биохимическими и физиологическими особенностями. Все фармакокинетические (ФК) процессы в организме этих пациентов могут находиться под влиянием еще незаконченного и относительно быстрого процесса созревания. У недоношенных новорожденных незрелость выделительной функции почек и ферментных систем печени является крайне важной проблемой, и она особенно выражена у недоношенных детей с очень низкой массой тела [Волянюк Е.В., 2011]. Из-за замедленной элиминации лекарств период полувыведения вещества может удлиняться, при этом возрастает опасность прогрессивного накопления препарата и возникновения побочных эффектов [Шабалов Н.П., 2000], что должно учитываться при выборе режима дозирования. Незрелость почечной функции особенно важно учитывать при терапии

лекарственными препаратами такими, как меропенем, для которых основной путь выведения – почечный. С другой стороны, свойственное новорожденным возможное увеличение кажущегося объема распределения лекарственного препарата в организме из-за большого содержания общей воды и внеклеточной жидкости может приводить к снижению эффективности стандартных режимов дозирования.

При лечении новорожденных пациентов для выбора оптимального режима дозирования, в том числе режима дозирования меропенема, нужно не только учитывать особенности фармакокинетики у таких пациентов [Van den Anker J. N., 2009; Van Elk J. G., 2001], но и индивидуальные ФК изменения по мере роста и развития пациента [Kearns G. L., 2003; Tayman C., 2011], что может потребовать корректировки дозирования в ходе проводимой терапии. Все это определяет практическое значение персонализации терапии меропенемом новорожденных по данным терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ). Поскольку меропенем не относится к препаратам с узким терапевтическим диапазоном, ТЛМ меропенема не был рекомендован для рутинного использования в клинической практике. Однако в последнее время в связи ростом резистентности к β -лактамным антибиотикам, и ассоциацией резистентности с низкими концентрациями антибиотика в крови, ТЛМ становится все более важен клинически, и все шире используется в особых популяциях пациентов [Huttner A; 2015].

Учитывая ограниченный объем данных о фармакокинетики меропенема в популяции новорожденных, сложности их получения, значительную межиндивидуальную ФК и фармакодинамическую (ФД) вариабельность в этой популяции пациентов, и особенно у недоношенных новорожденных, анализ данных ТЛМ меропенема, проведенного в этой особой подгруппе, имеет большое значение. Оценка индивидуальных ФК параметров по данным ТЛМ может помочь в оптимизации терапии меропенемом конкретному пациенту, а оценка популяционных значений ФК параметров и их вариабельности позволяет на основе ФК/ФД моделирования оценить ФД параметры различных режимов дозирования меропенема у недоношенных новорожденных в зависимости от резистентности возбудителя.

Персонализация режима дозирования необходима для предотвращения нежелательных эффектов и повышения эффективности проводимой терапии, и в данный момент является важной задачей в неонатологии, в том числе при проведении антибактериальной терапии меропенемом.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время существует ряд публикаций, описывающих определение меропенема в биологических жидкостях с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании с различными видами детекторов (спектрофотометрический [Pinder N., 2017; Roth T., 2017; Verdier M. C., 2011; Wicha S. G., 2016; Zou L., 2019], масс-спектрометрический [El-Najjar N., 2018; Lefeuvre S., 2017; Ohmori T., 2011; Padari H., 2012; Rigo-Bonnin R., 2017]), однако большинство из этих методов используют сложную подвижную фазу или требуют временных затрат на пробоподготовку и выполнение анализа. В литературе встречается небольшое число работ, относящихся к изучению фармакокинетики меропенема у новорожденных, и особенно недоношенных новорожденных [Bradley J. S., 2008; Van den Anker J. N., 2009; Ohata Y., 2011; Padari H., 2012; Van Enk J. G., 2001; Smith P. B., 2011; Germovsek E., 2018]. В данных работах фармакокинетика меропенема оценивается у ограниченного числа новорожденных, а в большинстве работ практически отсутствуют данные в подгруппе глубоко недоношенных новорожденных, при этом различия в дизайне данных исследований, популяциях пациентов, изучаемых дозах, схемах измерений концентраций, методах ФК анализа обуславливают значительные различия в полученных оценках ФК параметров между исследованиями.

Цель исследования

Оценить индивидуальные и популяционные ФК параметры, а также ФД показатели различных режимов дозирования меропенема на основе популяционного ФК/ФД моделирования и данных ТЛМ в популяции недоношенных новорожденных с целью разработки рекомендаций по выбору оптимального режима его дозирования.

Задачи исследования:

1. Разработать и валидировать чувствительный и доступный метод количественного определения меропенема в плазме крови с

помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-спектрофотометрическим детектированием (ВЭЖХ-УФ).

2. Изучить и обобщить этиологию инфекционных заболеваний у новорожденных с различной степенью недоношенности.

3. Изучить фармакокинетику меропенема у недоношенных новорожденных на основе популяционного ФК моделирования и Байесовского подхода по данным ТЛМ в зависимости от основных ковариат пациента: гестационного, постнатального, постконцептуального возраста, массы тела и клиренса креатинина.

4. На основе популяционного ФК/ФД моделирования оценить ФД показатели различных режимов дозирования меропенема в популяции недоношенных новорожденных.

5. Разработать практические рекомендации по проведению ТЛМ и дозированию меропенема у недоношенных новорожденных.

Научная новизна

В последние годы в мире отмечается рост числа исследований по изучению этиологии и эпидемиологии назначения антибактериальных препаратов, их фармакокинетики, в том числе меропенема, у новорожденных. Однако размер выборки в опубликованных к настоящему времени работах относительно небольшой, а полученные результаты варьируются, так как во многом зависят от дизайна исследования, схемы измерений, а также специфических характеристик пациентов таких, как гестационный и постнатальный возраст. В России проводились исследования, в которых изучалась лишь фармакоэпидемиология применения меропенема у недоношенных новорожденных, данных о ФК исследованиях меропенема у новорожденных отсутствуют. Информация о фармакокинетики меропенема у недоношенных новорожденных с гестационным возрастом менее 30 недель редко встречается и в международной литературе. Обобщенные в данной работе ФК результаты ТЛМ меропенема 53 недоношенных новорожденных, из которых у 39 (73,6 %) гестационный возраст был от 23 до 30 недель включительно, имеют большое научное значение.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработана и валидирована методика количественного определения содержания меропенема в плазме крови пациентов методом ВЭЖХ-УФ. Полученные популяционные оценки ФК параметров меропенема у недоношенных новорожденных, а также

представленные особенности фармакокинетики меропенема в этой группе пациентов, могут помочь в выборе индивидуальных режимов дозирования недоношенным новорожденным в клинической практике. Результаты ФК/ФД моделирования различных режимов дозирования позволяют оптимизировать режим дозирования пациентов с учетом МПК (оцененных или ожидаемых), а при наличии данных ТЛМ – с учетом индивидуальных значений ФК параметров. Обоснован режим дозирования меропенема, который максимизирует вероятность достижения ФД цели у недоношенных новорожденных при отсутствии данных ТЛМ и измерений МПК у пациента.

Внедрение результатов исследования

Разработанная методика количественного определения содержания меропенема в плазме крови методом ВЭЖХ-УФ внедрена в клиническую практику ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ» (г. Москва, справка о внедрении от 11.09.2020). Методика получения оценок индивидуальных значений ФК параметров меропенема у недоношенных новорожденных, а также рассчитанная популяционная ФК модель, используются при корректировке режимов дозирования меропенема (доза, интервал дозирования) в клинической практике филиала «Перинатальный центр» ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ» (г. Москва, справка о внедрении от 11.09.2020).

Методология и методы исследования

Согласно поставленным задачам выбраны общепринятые современные методологические подходы, а именно: метод ВЭЖХ-УФ количественного определения меропенема в плазме крови пациентов, с учётом физико-химических свойств меропенема и выбора подходящих условий проведения анализа. Индивидуальные и популяционные ФК параметры меропенема у недоношенных новорожденных были оценены с помощью программы NPAG из программного обеспечения USC*PASC (Pmetrics), разработанного в лаборатории Прикладной фармакокинетики и биоинформатики Университета Южной Калифорнии, США, которое широко применяется для популяционного моделирования и индивидуализации дозирования. Анализ ФК/ФД данных проводился на основе широко используемой в мире методологии [Сергиенко В. И., 2013].

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Нами разработана и валидирована методика количественного определения содержания меропенема в плазме крови пациентов методом ВЭЖХ-УФ.

2. Причинно-значимые патогены, выделенные из различных инфекционных локусов у недоношенных новорожденных, достаточно часто относятся к группе мультирезистентных микроорганизмов, что делает актуальным индивидуализацию дозирования меропенема у недоношенных новорожденных на основе ТЛМ для успешного преодоления резистентности и повышения эффективности терапии.

3. Рассчитанная популяционная ФК модель позволяет на основе Байесовского подхода оценивать индивидуальные ФК параметры меропенема по данным ТЛМ (1 – 2 измерения концентрации) у недоношенных новорожденных.

4. По данным ТЛМ меропенема у недоношенных новорожденных с помощью популяционного моделирования могут быть идентифицированы индивидуальные значения ФК параметров пациента, что позволяет на их основе оптимизировать режим дозирования меропенема с учетом выбранной ФД цели и уровня МПК возбудителя.

5. В случае отсутствия данных ТЛМ, режим дозирования меропенема 90 мг/кг/сут с интервалом дозирования 8 часов и длительностью инфузии 3 часа является наиболее перспективным в плане эффективности терапии инфекционных заболеваний с разным уровнем резистентности возбудителей у недоношенных новорожденных с приемлемым уровнем безопасности.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом собранных данных и использованием современных методов анализа. Оборудование, использованное в работе, было поверено и сертифицировано. Достоверность научных положений и выводов обеспечена валидацией аналитических методик, проведена статистическая обработка полученных результатов. Основные положения диссертационной работы представлены и обсуждены на 4-ой Московской конференции «Вотчаловские чтения» (Москва, 2018), на 5-ой Московской конференции «Вотчаловские чтения» (Москва,

2019), а также на XXVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2019).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 4 работы – в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК Минобрнауки РФ, и 2 работы – в рецензируемых журналах, входящих в международную базу данных Scopus.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста (основной текст на 126 страницах), состоит из 3 глав, включает 11 рисунков, 25 таблиц, 169 ссылок на литературные источники зарубежных и отечественных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Методика определения меропенема в крови методом ВЭЖХ-УФ

Разработанная нами в настоящем исследовании методика ВЭЖХ-УФ использовалась для количественного определения меропенема в плазме крови пациентов.

В работе использовалось следующее оборудование и реактивы: жидкостной хроматограф «VarianProStarModel 410», укомплектованный УФ-детектором (VARIAN, США), мешалка IKA Vortex 1 (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Германия), центрифуга «EppendorfCentrifuge 5418» (Eppendorf, Германия), аналитическая колонка 250*4,6 мм, заполненная октадецилсилильным силикагелем (C18), с размером частиц 5 мкм (Nucleosil C18 100-5), вода для ВЭЖХ (FisherChemical), метанол для ВЭЖХ (FisherChemical), стандартный образец меропенема тригидрата (EPCRS).

Хроматографические условия. Подвижная фаза: метанол— вода 15:85. Элюирование проводили при комнатной температуре в изократическом режиме со скоростью потока 1,0 мл/мин при длине волны 298 нм. Общее время анализа составило 12 мин. Объём вводимой пробы – 10 мкл.

Пробоподготовка. Пробы крови отбирались в установленное время и центрифугировались в течение 15 мин при 2000 мин⁻¹. К аликвоте плазмы крови объёмом 100 мкл прибавляли 400 мкл метанола, предварительно охлажденного при -20 °С в течение

20 мин, перемешивали на мешалке в течение 30 с и центрифугировали при 14000 об/мин в течение 5 мин.

Время удерживания меропенема при проведении анализа в описанных условиях составляло около 6,9 мин. Разработку методики с целью соблюдения этических аспектов вели на интактных и опытных образцах крови взрослых пациентов в возрасте от 24 до 86 лет, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии № 2 (ОРИТ 2) и отделении нефрологии ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ», г. Москва в 2019 года, которым по показаниям назначалась антибактериальная терапия меропенемом.

1.2. Этиология инфекционных заболеваний у недоношенных новорожденных

Изучены результаты бактериологических исследований, проведенных в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН) и неонатологических отделениях Перинатального центра ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ» за период с 2017 по 2019 года. Всего было проанализировано 5601 штамма. Данные интерпретировали в соответствии с российскими клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», Версия-2015-02 и международным стандартом EUCAST, версии: 7.1, 2017; 8.0, 2018; 9.0, 2019.

1.3. Фармакокинетическое исследование

Работа, связанная с постановкой диагноза, обследованием недоношенных новорожденных, введением препарата, выбором моментов проведения процедуры ТЛМ, определением режима дозирования меропенема и длительности инфузии и отбором проб крови осуществлялась врачами-неонатологами в Перинатальном центре ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ» (Москва). Забор образцов крови у недоношенных новорожденных проводился с апреля 2019 года по январь 2020 года. В ФК/ФД анализ включены данные 53 недоношенных новорожденных, из которых у 39 (73,6 %) гестационный возраст был от 23 до 30 недель включительно, а у 14 (26,4 %) – от 31 до 36 недель.

Критериями включения в исследование являлись: диагноз недоношенность от 22 до 36 недели; диагноз врожденная бактериальная инфекция или пневмония; назначение антибактериальной терапии меропенемом по клиническим показаниям; наличие письменного "Информированного согласия" от родителей или законных представителей детей. Критерии

невключения: наличие у ребенка генетической патологии или врожденной аномалии; рождение ребенка от ВИЧ-инфицированной матери; документированный отказ родителей от участия в исследовании.

Открытое проспективное неконтролируемое исследование проводилось по следующей схеме. Взятие проб крови в ходе процедуры ТЛМ осуществлялось по стратегии пик-спад (до и сразу после инфузии), у 6 (11,3 %) пациентов по решению лечащего врача-неонатолога концентрации меропенема измерялись двукратно в ходе повторной процедуры ТЛМ в разных интервалах дозирования. Забор образца крови объемом 1,0 мл производился в чистую пустую пробирку после четырехкратного и более введения инфузии препарата, за 15 минут до введения дозы меропенема, и через 15-20 минут после окончания инфузии. После забора крови образцы помещались на лёд для транспортировки в ФК лабораторию. При необходимости полученные образцы хранились в холодильнике при температуре 2 °С.

Для ФК моделирования использовалась однокамерная модель с процессом нулевого порядка поступления меропенема в центральную камеру и процессом выведения препарата первого порядка. Параметризация модели предполагала получение оценок константы скорости выведения (K_{el} , 1/ч) и кажущегося объема распределения центральной камеры (V , л). Индивидуальные значения клиренса (CL , л/ч) были рассчитаны как произведение соответствующих индивидуальных Байесовских апостериорных оценок параметров K_{el} и V пациента. Индивидуальные значения ФК параметров меропенема (K_{el} , V , CL) использовались для изучения зависимостей от демографических (гестационный (недель), постнатальный (дней) и концептуальный (недель) возраст, пол, масса тела (кг)) и клинических (клиренс креатинина (мл/мин/1,73 м²)) характеристик пациента с помощью однофакторного и многофакторного регрессионного анализа. Статистическая значимость рассматривалась на расширенном уровне 10 %.

Индивидуальные и популяционные ФК параметры меропенема у недоношенных новорожденных были оценены с помощью программы NPAG из программного обеспечения USC*PACK (Pmetrics).

2. РЕЗУЛЬТАТЫ

2.1. Пригодность хроматографической системы и валидационная оценка методики ВЭЖХ-УФ

Валидационная оценка методики показала, что воспроизводимость результатов с учётом критериев приемлемости достигается во всем интервале концентраций от 0,2 мкг/мл до 200 мкг/мл. Специфичность метода была подтверждена совпадением времен удерживания пика меропенема на хроматограммах растворов стандартного образца меропенема и хроматограммах интактной плазмы крови с добавлением известных количеств меропенема. Коэффициент корреляции градуировочной кривой составил 0,9998. Результаты правильности и прецизионности методики соответствуют предъявляемым требованиям к биоаналитическим методикам. НПКО на уровне 0,2 мкг/мл обеспечивает необходимую чувствительность методики. Результаты изучения стабильности образцов свидетельствуют об отсутствии необходимости использовать особые условия для их хранения.

Рисунок 1. Хроматограмма опытной плазмы крови.

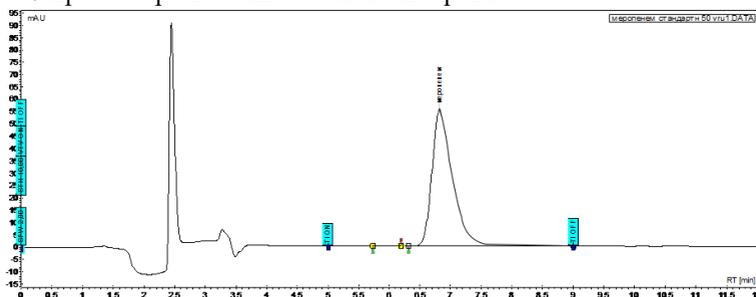


Таблица 1. Результаты определения правильности и прецизионности методики количественного определения меропенема в плазме крови.

Уровень концентрации	Номинальная концентрация меропенема в модельном растворе, мкг/мл	Средние значения полученных концентраций, мкг/мл	Правильность (ε), ± %	Прецизионность (RSD), %
НПКО	0,20	0,17	-15	14
Нижний	0,60	0,55	-8	11
Средний	60	62	+3	6
Верхний	120	118	-3	5

2.2. Этиологическая структура инфекционных заболеваний у недоношенных новорожденных

Анализ микробного пейзажа установил, что наиболее частыми возбудителями инфекций в отделениях Перинатального центра ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ» являются *K. pneumonia*, *E. coli*, *S. haemolyticus*, *P. aeruginosa*, а так же аэробные и факультативные грамотрицательные *A. baumannii*, *A. lwoffii*, *S. maltophilia*, *E. cloacae* и аэробные и факультативные грамположительные микроорганизмы — *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. faecium*. Наблюдалось существенное снижение доли *K. pneumonia* с 50,5 % (2017 год) до 31 % (2019 год) и увеличение доли *S. haemolyticus* с 9,3 % (2017 год) до 21 % (2019 год). Высокая резистентность к меропенему (МПК>8 мг/л) отмечалась у всех штаммов *S. haemolyticus* (100 %), у подавляющего числа штаммов *K. pneumonia* (81–98 %) и *S. epidermidis* (95–98 %).

Учитывая повышенный уровень распространенности и резистентности таких возбудителей, как *K. pneumonia*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* и *P. aeruginosa*, потенциально низкое воздействие меропенема может привести к неустеху проводимой антибиотикотерапии, а субтерапевтические концентрации могут способствовать селекции резистентных микроорганизмов, что еще больше увеличивает угрозу устойчивости к антибиотикам.

2.3. Результаты ФК/ФД анализа

В ФК/ФД анализ были включены данные ТЛМ 53 недоношенных новорожденных (всего 56 случаев и 112 измерений концентрации меропенема). Основными клиническими диагнозами у пациентов были: пневмония неуточненная (84,9 %), врожденная инфекция (18,9 %), некротизирующий энтероколит (66,0 %), бронхолегочная дисплазия (18,9 %) и другие. Дозирование меропенема производилось по следующим схемам: 20 мг/кг каждые 12 часов (PNA < 30 дней – 21 (39,6 %), PNA > 30 дней – 1 (1,9 %)), 20 мг/кг каждые 8 часов (PNA < 30 дней – 3 (5,7 %), PNA > 30 дней – 25 (47,1 %)), 30 мг/кг каждый 8 часов (PNA > 30 дней – 1 (1,9 %)), 40 мг/кг каждые 8 часов (PNA < 30 дней – 2 (3,8 %)), при этом у одного из пациентов (PNA > 30 дней) в ходе курса лечения меропенемом было принято решение врачом-неонатологом о повышении дозы с 20 мг/кг каждые 8 часов до 30 мг/кг каждые 8 часов. Длительность инфузии составила: 1 час (5,6 %), 2 часа (85 %) или 3 часа (9,4 %). Все пациенты хорошо переносили

инфузии меропенема. Не было зарегистрировано нежелательных эффектов, связанных, по мнению врачей-неонатологов, с применением данного лекарственного препарата. Гестационный возраст варьировался от 23 до 36 недель, постнатальный возраст составлял от 8 до 101 дня. Масса тела составила: при рождении от 650 до 2970 г; на момент первого измерения от 760 до 2970 г. Клиренс креатинина, рассчитанный по методу [Schwartz GL, 1984]: $CLCr \text{ (мл/мин)} = k \times L / PCr$ (где: k — возрастной коэффициент пересчета — 0,33, L — рост (см), PCr — уровень креатинина в плазме крови (мг/дл)), был в диапазоне от 7,87 до 50,88 мл/мин/1,73 м².

В исследовании наблюдалась значительная межиндивидуальная ФК вариабельность, приводящая к плохой предсказуемости уровня максимальной концентрации в конце инфузии и остаточной концентрации в конце интервала дозирования в зависимости от суточной дозы и длительности инфузии. Для значений C_{\max} при получении режима дозирования 60 мг/кг/сутки с длительностью инфузии 2 часа коэффициент вариабельности был оценен как 101,4 %, для режима дозирования 40 мг/кг/сутки с длительностью инфузии 2 часа — 117,6 %. Для значений остаточной концентрации для режима дозирования 60 мг/кг/сутки с длительностью инфузии 2 часа коэффициент вариабельности был оценен как 89,9 %, для режима дозирования 40 мг/кг/сутки с длительностью инфузии 2 часа — 51,6 %. В большинстве случаев существенного накопления препарата не происходило.

На основе Байесовского подхода с помощью программы NPAG нами были получены оценки максимального правдоподобия для ФК параметров и их распределений. Оцененные на основе линейной однокамерной модели по данным ТЛМ маргинальные распределения значений ФК параметров меропенема в популяции недоношенных новорожденных представлены на рисунке 2. Описательная статистика для популяционных ФК параметров меропенема в популяции недоношенных новорожденных, оцененных с помощью Байесовского подхода и рассчитанных для линейной однокамерной модели, представлена в таблицах 2 и 3. Для основных ФК параметров в популяции недоношенных новорожденных наблюдалась значительная межиндивидуальная вариабельность, коэффициент вариабельности достигал 39 %, что свидетельствует о необходимости проведения процедуры ТЛМ для индивидуализации антибактериальной терапии меропенемом.

Рисунок 2. Маргинальные распределения значений ФК параметров меропенема (линейная однокамерная модель) в популяции недоношенных новорожденных, оцененных с помощью Байесовского подхода (программа NPAG).

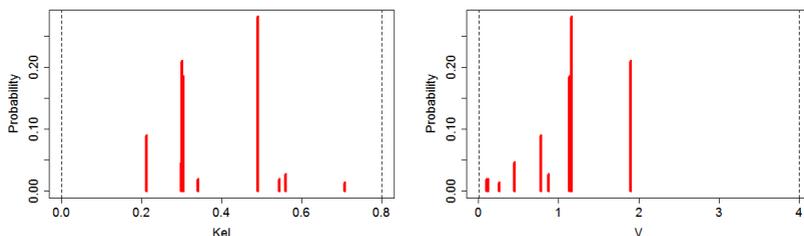


Таблица 2. Описательная статистика для популяционных ФК параметров меропенема (линейная однокамерная модель) в популяции недоношенных новорожденных, оцененных с помощью Байесовского подхода (программа NPAG).

ФК параметры	Статистические характеристики					
	Среднее значение	CO	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Медиана	Максимальное значение
Kel, 1/ч	0,374	0,112	29,9	0,213	0,307	0,708
V, л	1,181	0,456	38,6	0,102	1,143	1,899

Таблица 3. Описательная статистика для популяционных ФК параметров меропенема в популяции недоношенных новорожденных, рассчитанных для линейной однокамерной модели.

ФК параметры	Статистические характеристики					
	Среднее значение	CO	Коэффициент вариации, %	Минимальное значение	Медиана	Максимальное значение
T _{1/2} , ч	1,928	0,341	17,7	1,09	1,925	2,97
CL, л/ч	0,430	0,159	37,0	0,035	0,449	0,925
CL, л/ч/кг	0,260	0,085	32,7	0,03	0,278	0,42
V, л/кг	0,711	0,218	30,7	0,07	0,746	0,98

Рисунок 3. Соотношение предсказанных по модели и измеренных значений концентрации меропенема: 1. (слева) предсказанные значения на основе популяционных средних значений; 2. (справа) предсказанные значения на основе оцененных индивидуальных значений.

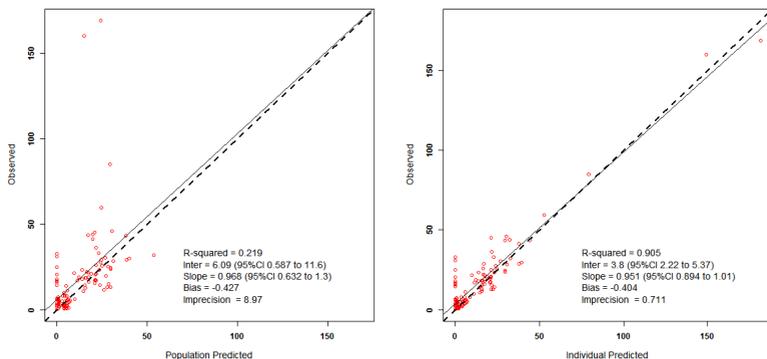


Рисунок 3 демонстрирует плохое предсказание измеренных значений концентрации на основе средних популяционных значений ФК параметров (левый график). Видно, что ошибка предсказания на основе средних популяционных значений растет с ростом значений концентрации, при этом наблюдается систематическая ошибка (bias) – концентрации, и особенно выше 50 мг/мл, предсказываются по модели более низкими значениями. На основе средних популяционных значений удастся описать 21,9 % общей вариации данных. Качество прогноза по модели на основе индивидуальных оценок ФК параметров становится намного лучше (правый график). Таким образом, удастся описать 90,5 % общей вариабельности данных.

Однофакторный и многофакторный линейный регрессионный анализ использовался для выявления ковариат, значимо влияющих на полученные индивидуальные оценки K_{el} , V и CL_{Cr} меропенема. Зависимость от клиренса креатинина (CL_{Cr}), хотя была статистически значимая ($p=0,006$), но объясняла только 12,4 % общего разброса значений показателя скорости выведения (K_{el}). Хотя для расчета CL_{Cr} используют массу тела пациента, дополнительное включение в регрессионную модель этой ковариаты позволило описать 23,6 % общего разброса значений K_{el} . Вероятно из-за сильной корреляции между ковариатами,

постконцептуальный возраст, значимый в однофакторном анализе ФК параметра Kel ($p=0,016$), теряет статистическую значимость при включении в многофакторную модель. Статистически значимая регрессионная зависимость от массы тела пациента ($p=0,029$) объясняет только 7,9 % общего разброса значений показателя V. После нормирования индивидуальных значений объема распределения на массу тела пациента по-прежнему наблюдалась статистически значимая зависимость показателя V (л/кг) от массы тела ($p<0,001$), но теперь обратная зависимость – объем распределения, нормированный на массу тела, в среднем, снижается с ростом массы тела пациента, вероятно, вследствие снижения содержания общей воды и внеклеточной жидкости (объясняет порядка 21 % разброса данных). После нормирования значений объема распределения на массу тела пациента наблюдались также статистически значимые зависимости показателя V (л/кг) от гестационного (10,4 %), постнатального (8,5 %) и постконцептуального возраста (23,8 %). Регрессионная зависимость от массы тела пациента объясняла не более 14,5 % разброса значений общего CL ($p=0,003$). Ковариаты гестационный возраст ($p=0,053$) и постконцептуальный возраст ($p=0,075$), статистически значимые в однофакторном анализе для CL меропенема на уровне 10 %, теряли статистическую значимость в многофакторном анализе.

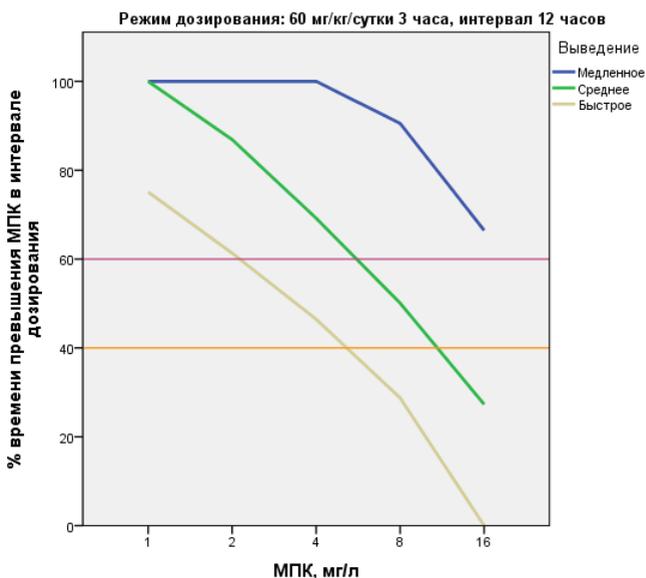
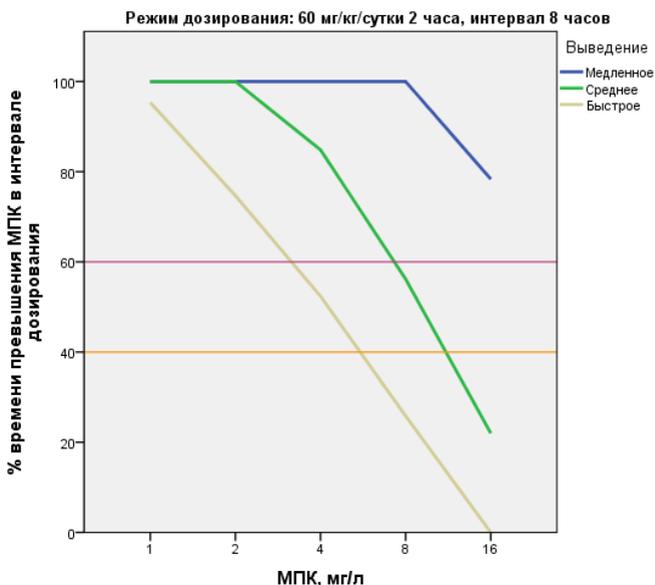
2.4. Моделирование ФК/ФД предиктора эффективности применения меропенема

На этапе ФК/ФД анализа на основе моделирования изучалось влияние особенностей фармакокинетики меропенема у пациента, а также влияние различных режимов дозирования на ФД показатель – время превышения свободной концентрации препарата уровня МПК в интервале дозирования ($\%T>МПК$), который наиболее тесно связан с клиническим результатом для β -лактамных антибиотиков [De Keukeleire S., 2016; Lim T. P., 2018; Pacifici G. M., 2019]. Для эффективной терапии данный показатель должен достигать 40 %, но для новорожденных и в случае тяжелых инфекций были предложены более высокие уровни терапевтической цели [Lutsar I., 2010], такие как 60 % $T>МПК$ [Bradley J. S., 2008], 75 % $T>МПК$ [Smith P. B., 2011]. Для условных “пациентов”, моделирующих “быстрое”, “среднее” и “медленное” выведение меропенема, были сгенерированы режимы дозирования для

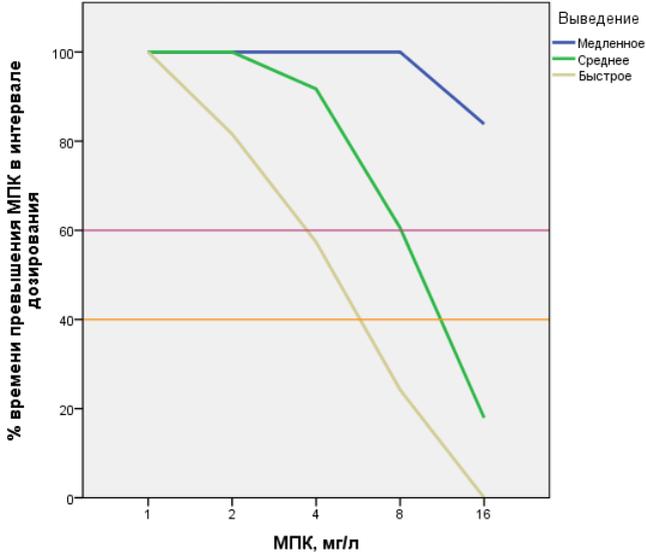
суточных доз 40, 60 и 90 мг/кг/сутки с введением каждые 8 или 12 часов. Масса тела “пациента” была фиксирована как 1700 г – среднее значение в изучаемой популяции. Было выбраны три набора ФК параметров в оцененном диапазоне: 1) $Kel = 0,266$ 1/ч, $CL = 0,144$ л/ч (“медленное выведение”), 2) $Kel = 0,350$ 1/ч, $CL = 0,400$ л/ч (“среднее”), 3) $Kel = 0,450$ 1/ч, $CL = 0,800$ л/ч (“быстрое выведение”). Расчеты проводились на основе линейной однокамерной модели. На рисунке 4 представлены рассчитанные значения ФД показателя %T>МПК для различных значений МПК в зависимости от различных режимов дозирования и различных значений ФК параметров. Достижение ФД показателя %T>МПК существенно зависит от режима дозирования (дозы, длительности инфузии, интервала дозирования), а также от ФК параметров. С увеличением длительности инфузии растет значение ФД показателя, уменьшение интервала дозирования значительно увеличивает вероятность достижения ФД.

Все проанализированные режимы дозирования позволяют достичь минимального целевого показателя %T>МПК ≥ 40 % при всех трех вариантах клиренса меропенема при моделировании эрадикации чувствительных к меропенему штаммов возбудителей с МПК 2 мг/л, в большинстве случаев достигается и более агрессивная ФД цель - %T>МПК ≥ 60 %. Для более высокого уровня МПК = 8 мг/л в большей степени проявляется преимущество режима дозирования 90 мг/кг/сут с интервалом введения 8 часов и 3-часовой инфузией. У “пациентов” с медленным выведением %T>МПК = 100 % независимо от уровня МПК в диапазоне 2-16 мг/л. Для “пациентов” с “быстрым” и “средним” клиренсом меропенема с ростом значений МПК снижаются рассчитанные значения ФД показателя, что означает растущий риск недостижения агрессивных ФД целей, а в случае “быстрого” выведения есть вероятность недостижения даже минимальной цели %T>МПК = 40 % при уровнях МПК выше 8 мг/л. Поскольку у недоношенных новорожденных наблюдается значительная межиндивидуальная вариабельность ФК параметров внутри одного и того же гестационного и постнатального возраста, именно учет индивидуальных значений ФК параметров пациента, а не только постнатальный возраст, позволяет подобрать оптимальный режим дозирования меропенема пациенту с учетом разных уровней резистентности возбудителей.

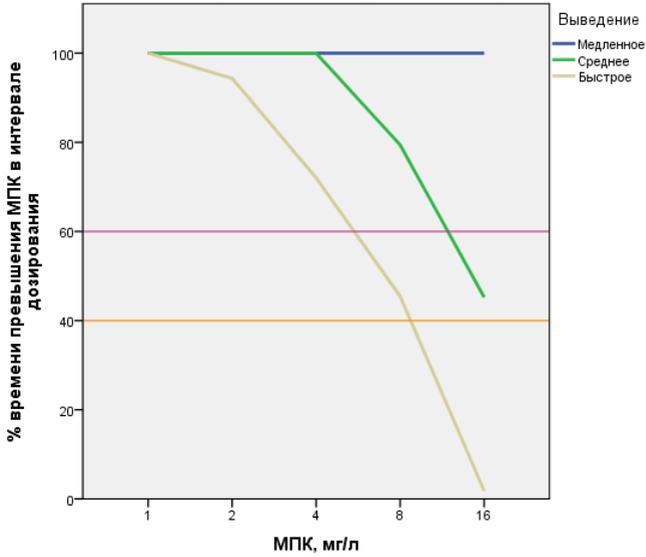
Рисунок 4. Моделируемые значения ФД показателя - %T>МПК для различных уровней МПК в зависимости от различных режимов дозирования и различных значений клиренса меропенема у “пациента”.



Режим дозирования: 60 мг/кг/сутки 3 часа, интервал 8 часов



Режим дозирования: 90 мг/кг/сутки 3 часа, интервал 8 часов



ВЫВОДЫ

1. Нами разработана и валидирована методика количественного определения меропенема в плазме крови методом ВЭЖХ-УФ, преимуществом которой является простая подвижная фаза и быстрая процедура пробоподготовки, что позволяет снизить затраты на реактивы и сократить общее время анализа. В качестве экстрагента предложен метанол. Данная методика успешно используется для проведения ТЛМ меропенема в клинической практике.

2. Изучение этиологической структуры причинно-значимых патогенов инфекций различной локализации у недоношенных новорожденных позволило заключить, что преобладающее значение в этиологии имеют резистентные штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Проведена оценка ФК параметров меропенема в популяции недоношенных новорожденных на основе популяционного моделирования. Рассчитанная популяционная модель может в дальнейшем использоваться как априорное распределение для оценки индивидуальных ФК параметров меропенема по данным ТЛМ (даже по одному измерению концентрации) будущих пациентов с помощью Байесовского подхода.

4. Популяционное ФК моделирование продемонстрировало значительную межиндивидуальную ФК вариабельность меропенема в популяции недоношенных новорожденных, что свидетельствует в пользу процедуры ТЛМ в этой специфической подгруппе пациентов для оптимизации терапии.

5. Популяционное ФК моделирование позволило выявить статистически значимые ковариаты для основных ФК параметров меропенема в популяции недоношенных новорожденных: для константы скорости выведения (K_{el}): клиренс креатинина, масса тела и постконцептуальный возраст; для общего клиренса: масса тела, гестационный и постконцептуальный возраст; для кажущегося объема распределения: масса тела, а также постконцептуальный возраст для объема распределения, нормированного на массу тела. Однако из-за значительной межиндивидуальной ФК вариабельности оцененные линейные регрессионные зависимости ФК параметров меропенема от ковариат позволяют описать лишь незначительную часть общего разброса значений. То есть, получить

многофакторную модель, которая могла бы дать приемлемое предсказание индивидуальных значений ФК параметров на основе ковариат конкретного пациента, по имеющимся данным не удалось, что также свидетельствует в пользу процедуры ТЛМ для оптимизации терапии у этих пациентов.

6. Продемонстрировано, что крайне ограниченные данные ТЛМ меропенема у недоношенных новорожденных могут использоваться для оценки с помощью популяционного моделирования индивидуальных значений ФК параметров пациента и расчета на их основе оптимального режима дозирования с учетом ФД цели и уровня МПК возбудителя.

7. Рассчитаны ФД показатели, оценивающие эффективность различных режимов дозирования меропенема, в зависимости от возможных индивидуальных значений ФК параметров (константы элиминации, клиренса), а также инфекционных заболеваний, вызванных возбудителями с разным уровнем резистентности к меропенему. Данные расчеты могут быть полезны для практикующих врачей для индивидуализации терапии меропенемом недоношенным новорожденным. В случае отсутствия данных ТЛМ по результатам ФК/ФД моделирования, режим дозирования меропенема 90 мг/кг/сут с интервалом дозирования 8 часов и длительностью инфузии 3 часа может рассматриваться как наиболее перспективный в отношении вероятности достижения ФД цели при терапии инфекционных заболеваний, вызванных возбудителями с разным уровнем резистентности к меропенему.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется проведение ТЛМ меропенема в клинической практике для оптимизации дозирования антибактериальной терапии недоношенным новорожденным из-за значительной ФК вариабельности и растущей резистентности к антибиотикам. Особенно важна процедура ТЛМ в случае лабораторного обнаружения отклонения показателей почечной функции (сывороточный креатинин и/или клиренс креатинина) как в сторону повышения, так и в сторону понижения. Особой группой пациентов для проведения ТЛМ являются недоношенные новорожденные с тяжелыми инфекциями, вызванными возбудителями с высоким уровнем резистентности к меропенему с МПК (измеренным или предполагаемым) от 8 мг/л и выше.

2. В ходе проведения процедуры ТЛМ пробу крови необходимо собирать в чистую пустую пробирку в объеме 0,8-1,5 мл. Хранить пробирку с анализом необходимо в холодильнике при температуре 2 °С в течение не более 12 часов. Транспортировка проб в лабораторию осуществляется в контейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом. Анализ пробы необходимо провести в течение 12 часов с момента забора крови.

3. Для оценки индивидуальных значений ФК параметров меропенема на основе линейной однокамерной модели по аналитическим формулам оптимальным является взятие в ходе процедуры ТЛМ двух проб крови в интервале дозирования (после и перед введением меропенема). Использование программного обеспечения Rmetrics для индивидуализации дозирования на основе Байесовского популяционного модельного подхода позволяет получать оценки индивидуальных значений ФК параметров пациента, как минимум, по 1 – 2 измерениям концентрации, соответствующим практически любым моментам времени в интервале дозирования. Для более точной идентификации индивидуальных значений двух ФК параметров традиционной однокамерной модели при внутривенной инфузии наиболее информативными являются следующие моменты взятия проб крови: 1) после окончания инфузии и 2) через $1,44 \cdot T_{1/2}$ после окончания инфузии. Если индивидуальное значение $T_{1/2}$ у пациента неизвестно, для выбора оптимального момента 2) можно использовать временной интервал, оцененный на основе диапазона большинства популяционных значений $T_{1/2}$: через 2 – 3,5 часа после окончания инфузии.

4. Повторное проведение ТЛМ в период курса терапии меропенемом с целью последующей корректировки дозирования необходимо при клинически значимых изменениях уровней креатинина, массы тела пациента, появлении других клинических признаков изменения состояния пациента, влияющих на фармакокинетику, а также при добавлении/исключении сопутствующих препаратов, потенциально влияющих на фармакокинетику меропенема у пациента.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Определение эффективности антибактериальной терапии путём проведения терапевтического лекарственного мониторинга / А.М. Казанова, М.С. Ченкуров, А.А. Копайло, М.А. Ивжиц, С.К. Зырянов // Антибиотики и химиотерапия. – 2020. – Т. 65, № 3-4. – с.29-33.

2. Разработка и валидация методики количественного определения меропенема в плазме крови для терапевтического лекарственного мониторинга / А.М. Казанова, Е.С. Степанова, Л.М. Макаренко, В.В. Чистяков, С.К. Зырянов, С.П. Сенченко // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54, № 4. – с.56-60.

3. Применение терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) при лечении беременной 34 недель с диагнозом "гангренозный аппендицит, перитонит" / С.К. Зырянов, И.Б. Бондарева, А.М. Казанова, М.А. Ивжиц, М.С. Ченкуров, А.А. Копайло // Хирург. – 2020. – № 3-4. – с. 15-26.

4. Современные подходы к повышению эффективности антибактериальной терапии в перинатологии: локальный опыт / А.М. Казанова, С.К. Зырянов, М.А. Ивжиц, А.Н. Круглов, М.С. Ченкуров, К.О. Куцая // Качественная клиническая практика. – 2019. – №1. – с. 66-74.

5. Проведение терапевтического лекарственного мониторинга меропенема среди недоношенных новорожденных / А.М. Казанова, С.К. Зырянов, М.А. Ивжиц // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2020. –Т. 8, № 1 (27). – с. 87-88.

6. Терапевтический лекарственный мониторинг как инструмент повышения эффективности и безопасности антибактериальной терапии при беременности / М.А. Ивжиц, М.С. Ченкуров, С.К. Зырянов, И.Б. Бондарева, А.М. Казанова // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2020. –Т. 8, № 1 (27). – с. 87-88.

7. Современные клиничко-фармакологические подходы к повышению эффективности противосудорожной терапии у глубоко недоношенных новорожденных / М.А. Ивжиц, М.С. Ченкуров, А.М. Казанова, С.К. Зырянов, И.Б. Бондарева, И.Ф. Тищенко // II Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Безопасность фармакотерапии: poli посере!»: сб.статей. – Казань. – 2019. – с. 36-37.

8. Рациональная антибиотикотерапия пневмоний в пожилом и старческом возрасте / М.С. Ченкуров, А.М. Казанова, Г.А. Пуцман, М.А. Ивжиц, С.К. Зырянов // II Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Безопасность фармакотерапии: poli posere!»: сб.статей. – Казань. – 2019. – с. 120-121.

СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВЭЖХ-УФ	высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием
ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ»	государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения города Москвы»
МПК	минимальная подавляющая концентрация
НПКО	нижний предел количественного определения
ОРИТН	отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных
ТЛМ	терапевтический лекарственный мониторинг
ФД	фармакодинамический
ФК	фармакокинетический
ФК/ФД	фармакокинетическое/фармакодинамическое
CL	клиренс
EUCAST	European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам
Kel	константа элиминации
NPAG	Non-Parametric Adaptive Grid, Непараметрический метод Адаптивных “Сеток”
PNA	postnatal age, постнатальный возраст
V	объем распределения
%T>МПК	отношение времени, в течение которого свободная концентрация препарата превышает МПК, ко времени между введениями препарата