

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-2-165-170

КОНТРОЛЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ТАКРОЛИМУСА В КРОВИ

О.Е. Гичкун^{1, 2}¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Такролимус (*TAC*) – базовый препарат для большинства схем иммуносупрессивной терапии, с узким терапевтическим окном: недостаточная доза препарата может привести к отторжению органов и тканей, избыточная – к увеличению риска инфекций, токсичности, злокачественным новообразованиям у реципиентов трансплантированных органов. *TAC* относится к препаратам группы ингибиторов кальциневрина, подавляющих функцию Т-лимфоцитов. Прием *TAC* сопряжен с регулярным клиническим наблюдением реципиентов и лабораторным контролем концентрации препарата в крови для обеспечения правильной дозировки лекарства и ограничения потенциального риска вредных побочных эффектов. В обзоре представлены данные о некоторых клинических, генетических факторах, влияющих на биодоступность и концентрацию *TAC* в крови, а также методические аспекты ее лабораторного контроля.

Ключевые слова: такролимус, полиморфизм гена *P450*, протоколы назначения, лекарственный мониторинг, трансплантация органов.

MONITORING TACROLIMUS WHOLE BLOOD CONCENTRATIONS

О.Е. Gichkun^{1, 2}¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Tacrolimus (*TAC*) is the primary drug for most immunosuppressive therapy regimens. It has a narrow therapeutic index, meaning that insufficient dose can lead to graft and tissue rejection, while overdose can lead to increased risk of infections, toxicity, and cancerous tumors in organ transplant recipients. *TAC* belongs to a group of calcineurin inhibitors inhibiting T-cell activation. The use of *TAC* requires regular clinical observation of recipients and laboratory monitoring of the drug concentrations in the blood. This is to ensure correct dosage of the drug and to limit the potential risk of harmful side effects. The review presents data on some clinical, genetic factors affecting the bioavailability and concentration of *TAC* in the blood. We also present data on the methodological aspects of *TAC* laboratory control.

Keywords: tacrolimus, *P450* gene polymorphism, prescription protocols, drug monitoring, organ transplantation.

Прием комбинированной иммуносупрессивной терапии – важный аспект лечения пациентов после трансплантации солидных органов. К базовым иммуносупрессивным препаратам у реципиентов солидных органов относятся ингибиторы кальциневрина (такролимус, циклоспорин А), ингибиторы пролиферативного сигнала (сиролимус, эверолимус), кортикостероиды, микофеноловая кислота и др.

К числу факторов, играющих роль в фармакокинетической изменчивости такролимуса (*TAC*), относятся характеристики пациентов (возраст или вес), полиморфизм генов, кодирующих ферментные белки, участвующие в метаболизме *TAC* [1]. Однозначные преимущества *TAC* должны быть сбалансированы с его побочными эффектами. Кроме того, множественные взаимодействия между лекарствен-

Для корреспонденции: Гичкун Ольга Евгеньевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 190-38-77. E-mail: Gichkunoe@yandex.ru

Corresponding author: Olga Gichkun. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Tel. (499) 190-38-77. E-mail: Gichkunoe@yandex.ru

ными средствами с индукторами и ингибиторами изоформ цитохрома P450 3A (CYP3A) CYP3A4 / A5 увеличивают риск недостаточного или избыточного воздействия *TAC*.

В настоящем обзоре рассматриваются клинические аспекты фармакодинамики *TAC*, фармакогенетические факторы, влияющие на результаты аллотрансплантации, лабораторный мониторинг концентрации лекарственного средства.

Такролимус, известный как FK-506, представляет собой макролидный иммуносупрессант, изолированный из *Streptomyces tsukubaensis*. Этот препарат был получен в 1984 году японскими исследователями [2]. *TAC* – лекарственное средство с пролонгированным высвобождением, которое ингибирует кальциневрин, протеинфосфатазу, необходимую для активации Т-лимфоцитов. По сравнению с циклоспорином А *TAC* обладает более выраженным антипролиферативным действием и лучшей переносимостью. В настоящее время применение *TAC* превышает потребление циклоспорина А; его мощный иммуносупрессивный эффект в 100 раз сильнее, чем у циклоспорина А. В связи с тем что *TAC* метаболизируется через систему цитохромов P-450, его концентрация в крови может меняться при одновременном назначении препаратов, использующих те же пути метаболизма [3, 4].

ФАРМАКОДИНАМИКА ПРЕПАРАТА: МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

TAC стал одним из наиболее часто назначаемых иммуносупрессантов после трансплантации солидных органов – сердца, легких, почек и поджелудочной железы. *TAC* связывается с FKBP-12, иммунофилином (комплекс FKBP12–FK506), ответственным за передачу сигнала, и образует пентамерный комплекс с Ca^{2+} кальмодулином и кальциневрином. Полученное образование ингибирует действие ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT). Экспрессия NFAT необходима для продукции интерлейкина-2 (IL-2), чтобы начать активацию Т-лимфоцитов. Было обнаружено, что *TAC* ингибирует не только активацию Т-клеток, но и снижает выработку IL-10, который побуждает В-клетки продуцировать большое количество антител. *TAC* может ингибировать высвобождение медиаторов и молекул воспаления из базофилов и тучных клеток. Основным механизмом действия *TAC* заключается в ингибировании перераспределения кальциневрина в щелевой диафрагме [5, 6].

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ФАРМАКОГЕНЕТИКА ПРЕПАРАТА

Всасывание *TAC* происходит главным образом в тонком кишечнике, и пища значительно влияет на относительную биодоступность препарата. Принимая во внимание, что самое высокое поглощение происходит натощак, пища с высоким содержанием жиров и углеводов снижает среднюю площадь под кривой (AUC) и максимальные концентрации *TAC* в крови. Концентрация (Cmax) *TAC* в крови достигает пика примерно через 1–3 часа; биодоступность варьирует у реципиентов солидных органов от 4 до 93%, в среднем 25%. *TAC* в первую очередь перераспределяется в эритроцитах. Концентрации в цельной крови в 10–30 раз превышают концентрации препарата в плазме, поэтому измерение *TAC* в цельной крови наиболее широко используется в клинической практике. *TAC* на 99% связан с белками плазмы: альбумином, α -1 кислым гликопротеином (орозомукоид), липопротеином и глобулинами [7]. На фармакокинетику *TAC* влияют такие факторы, как возраст, этническая принадлежность пациента, состояние донорского органа, сопутствующие заболевания, лекарственные препараты, диета, а также полиморфизм фермента, метаболизирующего препарат, и белка-переносчика. *TAC* почти полностью метаболизируется изоферментами CYP3A4 и CYP3A5 в печени и является субстратом Р-гликопротеина (P-gp), кодируемого геном устойчивости к нескольким лекарствам 1 (ABCB1) [8, 9]. Исследования показали, что CYP3A5 является преобладающим ферментом в метаболизме *TAC*. Полиморфизм гена CYP3A5 является основной причиной токсического эффекта при приеме *TAC*. Замена нуклеотида A6986G в гене CYP3A5 (аллель CYP3A5* 3) приводит к отсутствию функциональной активности CYP3A5 в ткани печени (CYP3A5 – не экспрессоры). Для пациентов с таким фенотипом требуются меньшие дозы *TAC*. Гетерозиготные или гомозиготные носители аллеля дикого типа CYP3A5* 1, обозначенного как * 1 / * 1 и * 1 / * 3, производят высокий уровень CYP3A5 мРНК и белка (CYP3A5-экспрессоры). При таких фенотипах для пациентов, принимающих *TAC*, могут потребоваться более высокие дозы препарата [10, 11].

ИММУНОСУПРЕССИЯ У ДЕТЕЙ

При иммуносупрессивной терапии у детей необходимо учитывать особенности детского иммунитета. Отличием иммунной системы маленьких детей является незрелость Т- и В-лимфоцитов. Особенностью незрелых В-клеток является то, что они продуцируют только иммуноглобулины класса М. Созревание В-клеток продолжается в течение пер-

вого года жизни и отражается в последовательном появлении разных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови. Синтез IgA, особенно его секреторной формы, полностью отсутствует у новорожденных и появляется после 3-го месяца жизни, что дает основание говорить о недостаточности системы местного иммунитета в первые годы жизни. Супрессорная функция иммунной системы детей первого года жизни к лимфоцитам матери является физиологичной и направлена на предупреждение тяжелой иммунокомплексной патологии, возможной при контакте с большим числом антигенов [12]. У детей период полужизни *TAC* в два раза короче по сравнению со взрослыми, скорость клиренса препарата в 2–4 раза выше, объем распределения в 1,8 раза выше в раннем посттрансплантационном периоде [13]. При назначении *TAC* внутрь некоторым детям требуется более длительный период для накопления препарата, у других, наоборот, быстро достигается необходимый терапевтический уровень. Также у детей было показано, что полиморфизм *CYP3A5* оказывает существенное влияние на фармакокинетическую изменчивость *TAC*. Дети с аллелем *CYP3A5* * 1 имеют более высокие требования к дозе *TAC*, чем *CYP3A5* неэкспрессоры. Для детей и подростков по крайней мере с одним аллелем *CYP3A5* * 1 увеличение в 1,5–2 раза в дозе аналогично рекомендации для взрослых. Несмотря на то что *CYP3A5* может объяснить до 45% фармакокинетической вариабельности *TAC* между индивидуумами, другие факторы также могут влиять на *TAC*: различия скорости опорожнения желудка или неспособность *TAC* растворяться в желудочном содержимом. Следует учитывать влияние иммуносупрессантов на рост и развитие детей, особенно на протекание инфекционных процессов и более высокие показатели посттрансплантационной лимфолиферативной заболеваемости [14, 15].

ИНСТРУМЕНТЫ И СХЕМЫ ПОДБОРА ИММУНОСУПРЕССИИ

Проблема подбора режима иммуносупрессии после трансплантации органов является актуальной ввиду того, что у реципиентов, с одной стороны, при назначении высоких доз иммуносупрессантов высок риск развития инфекционных осложнений, злокачественных новообразований, а с другой – при назначении минимальных доз иммуносупрессантов может развиваться отторжение и дисфункция трансплантата.

Начальная иммуносупрессия подбирается эмпирически из расчета массы тела реципиента и режима приема два раза в день, далее учитываются биохимические показатели и уровень препарата в крови.

TAC может назначаться в различных формах и режимах: внутривенно, перорально, два раза в день с немедленным высвобождением, один раз в день с модифицированным высвобождением – требования к дозе меняются с течением времени. Данный факт делает обязательной разработку различных программ подбора дозы препарата, на основе популяционных моделей фармакокинетики.

Существует ряд электронных ресурсов для рутинного подбора и коррекции дозы различных препаратов, включая *TAC*, с учетом терапевтического значения, назначаемого лечащим врачом [16]. Веб-сайт ISBA (www.pharmaco.chu-limoges.fr) позволяет индивидуально подбирать дозы иммунодепрессантов. Пользователь заполняет форму, в которой указывает ряд параметров: тип трансплантированного органа, время, прошедшее между введением лекарства и измерением концентрации, сопутствующие препараты и т. д. Запрос подтверждает в течение 24 часов квалифицированный фармаколог, который предоставляет индивидуальные рекомендации для достижения заранее определенной врачом терапевтической цели.

DoseMe (www.doseme.com.au) – другой доступный инструмент, подходит для коррекции дозы *TAC* и других препаратов с использованием ранее опубликованных популяционных фармакокинетических моделей [17]. Он доступен как интернет-сайт с пользовательским интерфейсом. Программа обрабатывает разные режимы приема иммуносупрессии: дважды в день или раз в день, на основе популяционной модели, опубликованной Woillard et al. [18]. Другие ресурсы (MWPharm и BestDose) являются программным обеспечением для компьютера, все действия выполняются в режиме онлайн, и пользователь должен предоставить только входные данные, которые проверяются автоматически, чтобы не было ошибочных значений, и интерпретировать отчет.

В ряде медицинских центров разрабатываются собственные персонализированные схемы лечения на основе иммуносупрессивных препаратов для пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов.

ЛАБОРАТОРНЫЙ МОНИТОРИНГ ИММУНОСУПРЕССАНТОВ

Тяжесть потенциальных неблагоприятных эффектов обуславливает необходимость регулярно контролировать режим приема базовых иммуносупрессивных препаратов, таких как *TAC*, циклоспорин А, эверолимус и др., и их концентрацию в крови у реципиентов, принимающих данные препараты. Мониторинг лекарственных препаратов во многих лабораториях проводят с помощью одного из мето-

дов – иммунохимического анализа или жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS) [19, 20].

Как и у многих лекарственных препаратов, уровень *TAC* имеет тенденцию сильно варьировать среди пациентов, зависит от многих факторов, по этой причине нет установленных референтных значений для его концентрации. Результаты исследований должны быть интерпретированы только врачом и использоваться в сочетании с другими диагностическими результатами. В некоторых случаях *TAC* можно применять совместно с другими иммуносупрессантами для уменьшения воздействия вредных побочных эффектов. В некоторых ситуациях пациента необходимо поддерживать на низких концентрациях *TAC* (3–7 нг/мл), для этого лаборатории должны использовать методики, которые проявляют низкие пределы чувствительности, от 1 нг/мл [21].

В исследовании, проведенном Международной ассоциацией по контролю за терапевтическими лекарственными средствами и клинической токсикологией (IATDMCT), LC-MS/MS был определен как «золотой» метод мониторинга препарата из-за его высокой специфичности в 53% обследованных лабораториях – 76 лабораторий из 14 разных странах. Этот метод позволяет оптимально разделить молекулы на фрагменты [22].

Методы масс-спектрометрии также могут быть применены для анализа образцов высушенной крови. Преимущество метода состоит в том, что образец собирается у пациента дома, а затем отправляется в лабораторию для измерения, снижая транспортные расходы и экономя время пациенту (в России метод не зарегистрирован). Однако было показано, что высокий гематокрит влияет на проницаемость бумаги. Образцы пациентов с увеличенными объемами клеток имеют более низкую проницаемость через бумагу, создавая меньшее пятно, что влияет на получение точных результатов [23, 24].

Количественное определение *TAC* в иммунохимическом анализе является одним из преимуществ метода. Подобно LC-MS/MS измерение образца в иммуноанализе проводят после стадии предварительной обработки, примером является подготовка образца для анализа на приборе ARCHITECT i2000SR (Abbott Diagnostics) с хемилюминесцентной технологией, в которой используется сульфат метанола / цинка для осаждения белка и экстракции *TAC* из образца цельной крови с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Для оценки концентрации *TAC* в крови могут применяться анализаторы COBAS (Roche) и Dimension (Siemens Healthcare Diagnostics), которые используют в своей работе технологии иммунофер-

ментного анализа и антитело-конъюгированного магнитного иммуноанализа.

Основным недостатком, наблюдаемым во многих нехроматографических системах, является вероятность перекрестной реактивности между исходным лекарственным средством и его метаболитами, что может приводить к ложноповышенным значениям концентрации препарата в крови [19].

Достижения в области иммунохимического анализа включают автоматическую предварительную обработку образца, повышенную стабильность реагентов для снижения потенциального матричного эффекта и новые анти-*TAC* антитела, которые обеспечивают большую чувствительность и близость к целевой концентрации. Иммунохимический анализ используется во многих лабораториях из-за его простоты использования и снижения затрат, связанных с услугами, производитель часто обеспечивает обучение, поддержку и обслуживание для этих систем. Для проведения тестирования LC-MS/MS требуется высокая степень технической способности и обширная подготовка персонала. Этот метод также требует высоких первоначальных затрат и полной проверки для использования [25].

ВОПРОСЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Пожизненное применение иммуносупрессивных препаратов, с одной стороны, улучшает выживаемость реципиентов, с другой – приводит к проблеме побочных токсичных эффектов на почки, сердце и другие органы на фоне длительного приема препаратов. У пациентов с низким риском развития отторжения дозы иммуносупрессивных средств могут быть снижены в течение 1–2 лет. Снижение эффекта нефротоксичности, как правило, подразумевает снижение доз ингибиторов кальциневрина и кортикостероидов.

Наличие сопутствующих заболеваний у реципиента (артериальная гипертония, инфекционные осложнения, почечная недостаточность и др.) сопровождается назначением дополнительных лекарственных препаратов, что повышает риск развития нежелательных взаимодействий. Дополнительное назначение лекарственных средств должно проводиться с учетом их потенциального влияния (повышение или понижение) на концентрацию *TAC* [3, 26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование ингибиторов кальциневрина, циклоспорина А и такролимуса улучшило показатели выживаемости трансплантатов и пациентов, значительно уменьшив частоту развития острого и хронического отторжения. Однако длительное применение

этих препаратов влечет к развитию нефротоксичности, метаболическим и косметическим побочным эффектам, а также другим возможным осложнениям (системная артериальная гипертензия, нейротоксичность, увеличение риска развития инфекционных осложнений, возникновение посттрансплантационных лимфопролиферативных нарушений).

Однако актуальными остаются вопросы разработки подходов к персонализации иммуносупрессивной терапии на основе изучения фармакокинетики такролимуса, включая генетические аспекты, а также вопросы лекарственного взаимодействия у реципиентов с коморбидной патологией.

Лабораторный мониторинг *TAC* является важной составляющей в посттрансплантационном ведении реципиентов и может выполняться двумя различными методами: LC-MS/MS или иммунохимический анализ. Для обеспечения точности и правильности результатов необходимо, чтобы выбранная платформа контроля *TAC* в крови была сертифицирована, стандартизирована и хорошо поддерживалась.

Исследование профинансировано грантом Президента Российской Федерации НШ-2598.2020.7 для государственной поддержки ведущих научных школ РФ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2011. 472 с.: ил. *Immunosupressiya pri transplantatsii solidnykh organov / Pod red. S.V. Gautier. M.–Tver': Triada, 2011. 472 s.: il.*
2. Bowman LJ, Brennan DC. The role of tacrolimus in renal transplantation. *Expert Opin Pharmacother.* 2008; 9 (4): 635–643.
3. Готье СВ, Шевченко АО, Попцов ВН. Пациент с трансплантированным сердцем. Руководство для врачей по ведению пациентов, перенесших трансплантацию сердца. М.–Тверь: Триада, 2014. 144 с. *Gautier SV, Shevchenko AO, Popcov VN. Patient s transplantirovannym serdcem. Rukovodstvo dlja vrachej po vedeniju pacientov, perenesshih transplantaciju serdca. M.–Tver': Triada, 2014. 144.*
4. Gao L, Liu J, Zhang Y et al. Low incidence of acute graft-versus-host disease with short-term tacrolimus in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Res.* 2017; 57: 27–36.
5. Maguire O, Tornatore KM, O'Loughlin KL et al. Nuclear translocation of nuclear factor of activated T cells (NFAT) as a quantitative pharmacodynamic parameter for tacrolimus. *Cytometry A.* 2013; 83: 1096–1104.
6. Nassereddine S, Rafei H, Elbahesh E, Tabbara I. Acute graft versus host disease: a comprehensive review. *Anti-cancer Res.* 2017; 37 (4): 1547–1555.
7. Yu M, Liu M, Zhang W, Ming Y. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and Pharmacogenetics of Tacrolimus in Kidney Transplantation. *Curr Drug Metab.* 2018; 19 (6): 513–522.
8. Vanhove T, Annaert P, Kuypers DRJ. Clinical determinants of calcineurin inhibitor disposition: a mechanistic review. *Drug Metab Rev.* 2016; 48 (1): 88–112.
9. Tang JT et al. Pharmacogenetic aspects of the use of tacrolimus in renal transplantation: recent developments and ethnic considerations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2016; 12 (5): 555–565.
10. Shuker N et al. A randomized controlled trial comparing the efficacy of Cyp3a5 genotype-based with body-weight-based tacrolimus dosing after living donor kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2016; 16 (7): 2085–2096.
11. Birdwell KA et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for CYP3A5 Genotype and tacrolimus dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 98 X. Zhang et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2018; 102: 107–114. 2015; 1: 19–24.
12. Цирульникова ОМ, Лурье ЮЭ, Цирульникова ИЕ. Особенности иммуносупрессивной терапии у детей. Иммуносупрессивная терапия у детей при трансплантации печени. *Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов.* М.–Тверь: Триада; 2011: 273–337. *Tsirulnikova OM, Lurie YuE, Tsirulnikova IE. Features of immunosuppressive therapy in children. Immunosuppressive therapy in children at liver transplantation. Immunosuppression at solid organ transplantation. M.–Tver: Triada; 2011: 273–337. [In Russian].*
13. Agarwal A, Pescovitz MD. Immunosuppression in pediatric solid organ transplantation. *Semin Pediatr Surg.* 2006 Aug; 15 (3): 142–152.
14. Turmelle YP, Nadler ML, Anderson CD et al. Towards minimizing immunosuppression in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplantation.* 2009; 13: 553–559.
15. Hao GX, Song LL, Zhang DF et al. Off-label use of tacrolimus in children with glomerular disease: Effectiveness, safety and pharmacokinetics. *Br J Clin Pharmacol.* 2020 Feb; 86 (2): 274–284. doi: 10.1111/bcp.14174. Epub 2020 Jan 14.
16. Fuchs A, Csajka C, Thoma Y, Buclin T, Widmer N. Benchmarking therapeutic drug monitoring software: a review of available computer tools. *Clin Pharmacokinet.* 2013; 52: 9–22. <http://dx.doi.org/10.1007/s40262-012-0020-y>.
17. Burton ME, Brater DC, Chen PS, Day RB, Huber PJ, Vasko MR. A Bayesian feedback method of aminoglycoside dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 1985; 37: 349–357.
18. Woillard J-B, de Winter BCM, Kamar N, Marquet P, Rostaing L, Rousseau A. Population pharmacokinetic

- model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations – twice daily Prograf and once daily Advagraf. *Br J Clin Pharmacol*. 2011; 71: 391–402, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2125.2010.03837.x>.
19. Gounden V, Soldin SJ. Tacrolimus measurement: building a better immunoassay. *Clin Chem*. 2014; 60 (4): 575–576.
 20. McShane AJ, Bunch DR, Wang S. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressants by liquid chromatography – mass spectrometry. *Clin Chim Acta*. 2016; 454: 1–5.
 21. Bargnoux AS, Sutra T, Badiou S et al. Evaluation of the new Siemens tacrolimus assay on the Dimension EXL integrated chemistry system analyzer: comparison with an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Ther Drug Monit*. 2016; 38 (6): 808–812.
 22. Polledri E, Mercadante R, Ferraris Fusarini C, Maivacca R, Fustinoni S. Immunosuppressive drugs in whole blood: validation of a commercially available liquid chromatography/tandem mass spectrometry kit and comparison with immunochemical assays. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2017; 31 (13): 1111–1120.
 23. Koster RA, Veenhof H, Botma R et al. Dried blood spot validation of five immunosuppressants, without hematocrit correction, on two LC-MS/MS systems. *Bioanalysis*. 2017; 9 (7): 553–563.
 24. Koster RA, Alffenaar JW, Greijdanus B, Uges DR. Fast LC-MS/MS analysis of tacrolimus, sirolimus, everolimus and cyclosporine A in dried blood spots and the influence of the hematocrit and immunosuppressant concentration on recovery. *Talanta*. 2013; 115: 47–54.
 25. McShane AJ, Bunch DR, Wang S. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressants by liquid chromatography – mass spectrometry. *Clin Chim Acta*. 2016; 454: 1–5.
 26. Шевченко АО, Никитина ЕА, Колоскова НН, Шевченко ОП, Готье СВ. Контролируемая артериальная гипертензия и выживаемость без нежелательных событий у реципиентов сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2018; 17 (4): 4–11. Shevchenko AO, Nikitina EA, Koloskova NN, Shevchenko OP, Gautier SV. Kontroliruemaja arterial'naja gipertenzija i vyzhivaemost' bez nezhelatel'nyh sobytij u recipientov serdca. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. 2018; 17 (4): 4–11. [In Russ, English abstract].

Статья поступила в редакцию 27.03.2020 г.

The article was submitted to the journal on 27.03.2020