

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2024.04.10

免疫抑制剂检测策略的研究进展*

袁昕怡, 张天娇, 张传宝(北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心 中国医学科学院老年医学研究院 中国医学科学院北京协和医学院, 北京 100730)

摘要: 免疫抑制剂是一类能够抑制移植排斥反应, 维持器官移植术后患者健康的药物。由于治疗窗口窄、毒副作用大, 个体差异大等特点, 免疫抑制剂已成为重要治疗药物监测项目。然而临床上面临药物浓度结果与药效相关性不佳、侵入性操作风险等问题, 限制其发展。随着相关研究发展, 越来越多新检测策略出现, 如游离药物浓度、干血斑、唾液检测等, 进一步推动免疫抑制剂检测向着准确、便捷、低风险的方向发展。该文总结了免疫抑制剂各类检测策略的研究进展, 为临床选择提供参考。

关键词: 免疫抑制剂; 治疗药物监测; 干血斑; 游离药物浓度; 唾液

中图分类号: R446

文献标志码: A

器官移植是治疗良性终末期疾病的重要方式, 但伴随的移植免疫排斥反应是一个亟需解决的难题^[1]。免疫抑制剂(immunosuppressive drugs, ISDs)通过抑制移植排斥反应维持患者健康, 现已广泛应用于临床。但 ISDs 的药物代谢存在明显的个体化差异, 并且还存在着治疗窗口狭窄、易发生毒副作用等问题, 需要开展治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM)^[2-3]。多篇免疫抑制剂的专家共识强调, 探索、完善相关药物的检测策略, 是 ISDs TDM 领域重要的发展方向之一^[2,4-5]。随着相关研究的推进, 本文针对免疫抑制剂的检测策略的研究进展进行了概述并分析其各自的优劣势。

1 免疫抑制剂检测方法

1.1 免疫法 临床进行 TDM 的免疫抑制剂主要包括环孢素 A、他克莫司、西罗莫司、依维莫司和霉酚酸 5 种, 多用免疫法检测。免疫法包括酶倍增免疫分析(EMIT)、化学发光微粒免疫分析(CMIA)、电化学发光免疫分析(ECLIA)等, 其中, CMIA 因为其低偏倚、高精密度等特点迅速成为了免疫分析法的主导者^[4]。各种免疫法具有周转时间短、自动化程度高、通量高等优点, 随着近 20 年的发展, 现有大量成熟的商品化试剂盒, 符合临床检测需求, 广泛应用于临床实验室。但免疫抑制剂在人体内形成的代谢产物可能存在交叉反应, 导致免疫法检测结果偏高^[4,6]。

1.2 质谱法 随着质谱的高速发展, 其在免疫抑制剂检测中得到广泛应用。质谱常与液相色谱串联使用。免疫抑制剂质谱分析一般采用电喷雾电离(ESI)作为界面, 使样品化合物进入质谱^[4]。液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)高灵敏、高特异、能实现多种物质同时检测等特点, 使之成为公认的理想检测方法^[7]。目前 LC-MS/MS 也存在商品化试剂盒, 可实现样本批量检测。但受限于 LC-MS/MS 对人员操作要求高、

仪器成本高等问题, 我国主流检测仍以免疫法为主^[8-9]。

1.3 免疫抑制剂检测标准化现状 2020 年德国罗氏建立了一种基于 ID LC-MS/MS 同时检测环孢素 A、他克莫司、西罗莫司、依维莫司的方法, 被 JCTLM 收录为参考方法^[10]。国际上, 他克莫司和西罗莫司均存在已被收录的标准物质, 环孢素 A 和依维莫司暂无标准物质。在国内, 2020—2023 年国家卫生健康委临床检验中心(National Center of Clinical Laboratories, NCCL)开展的室间质量评价计划(external quality assessment, EQA)结果显示, 使用免疫法的实验室数量约占总数的 62%~80%, 远高于 LC-MS/MS 法。目前, 参加全国 EQA 计划的实验室总体合格率达 95% 以上, 这可能与当前设定的可接受范围相对较宽松(靶值 $\pm 20\%$)有一定关系, 而国外类似 EQA 计划的评价限比较严格, 例如澳大利亚皇家病理医生学院质量保证计划(RCPAQAP)免疫抑制剂能力验证计划规定的可接受范围为靶值 $\pm 10\%$ 。提高我国免疫抑制剂检测的质量水平, 研究更适宜的检测策略, 逐步促进检测质量要求向更严格的标准靠拢, 对进一步实现检测标准化具有重要意义。

2 免疫抑制剂检测策略

2.1 基于全血/血浆的免疫抑制剂检测

2.1.1 全血/血浆中总药物浓度检测 目前临床实验室主要针对全血/血浆中的总药物浓度进行免疫抑制剂的检测。根据药物在体内的分布不同, 选择不同的样本类型进行药物浓度检测。其中环孢素 A、他克莫司、西罗莫司、依维莫司四种药物主要与红细胞和血浆蛋白结合, 霉酚酸主要与血浆白蛋白结合, 因此前 4 种药物使用全血、霉酚酸使用血浆进行总药物浓度检测^[3-4]。经过近 20 年的发展, 全血/血浆中的总药物浓度检测免疫法效率高、成本低; LC-MS/MS 法高特异、定量准确, 针对全血/血浆中的总药物浓度检测

* 基金项目: 国家重点研发计划(2022YFF0710305)。

作者简介: 袁昕怡, 1999 年生, 女, 硕士研究生。

通信作者: 张天娇, 研究员, E-mail: tjzhang@nccl.org.cn; 张传宝, 研究员, E-mail: cbzhang@nccl.org.cn。

相对成熟。此外,已建立的参考方法检测全血中总药物浓度,他克莫司和西罗莫司存在全血基质的标准物质,均能保证免疫抑制剂总药物浓度检测可溯源至 SI 单位。

总药物浓度检测可实现量值溯源,保证检测结果的准确性;检测总药物浓度技术相对成熟,满足临床检测需求;总药物浓度一定程度上反映药效结果,结合共识意见,可作为用药调整的有效依据。

2.1.2 血浆中游离药物浓度检测 游离药物浓度指未与蛋白结合部分的药物浓度,药理学认为,只有未与蛋白质结合的部分药物才能发挥药理活性。如果药物与血浆蛋白质的结合率发生变化,那么与药效相关的游离部分浓度就会相应改变,此时监测的总药物浓度难以作为药效的参考指标^[11]。游离部分浓度仅占总药物浓度的 1% 或更少,检测难度大。然而随着 LC-MS/MS 向着高灵敏度、高效样品提取的方向发展,在一定程度上克服了浓度过低而测定不准的问题。此前已建立基于 LC-MS/MS 技术检测游离他克莫司、环孢素 A 和霉酚酸的方法^[11-13],为游离药物检测的发展奠定基础。根据 Bittersohl 等^[11]报道,相较于常规加铵化合物形式离子,选择他克莫司加锂离子能形成更稳定的正加合离子,可以提高游离药物浓度检测方法的灵敏度。在游离药物浓度检测中,通常选择通过超滤技术将未结合的药物与结合型药物分离^[13]。与超速离心和平衡透析等其他技术相比,超滤更简单易用,具有更高的样品通量。值得关注的是,超滤法受到温度、离心时间、血浆等条件影响,发生聚集或吸附现象,可能影响检测的准确性^[14]。但几项研究中的超滤技术都表现出了良好的性能^[11-13]。游离药物浓度检测还需注意保持样本“新鲜”。储存时间过长的样本,游离药物浓度结果会显著升高,这可能是由血浆脂解引起的^[13]。

已建立多种检测游离免疫抑制剂药物浓度的方法仍需进一步方法验证。但不可否认的是,游离药物浓度与药物毒副作用相关性更好,相比于总药物浓度,直接测量游离部分免疫抑制剂能更好反映药效作用,有利于临床及时调整用药剂量,具有较大的临床实际价值。

2.1.3 血浆中细胞内药物浓度检测 检测免疫抑制剂直接作用于淋巴细胞内的药物浓度,是药理学家认为优化免疫抑制剂检测的方法。外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)是淋巴细胞中富集的细胞部分,因此细胞内药物浓度常选择 PBMC 进行检测^[14-15]。免疫抑制剂细胞内药物浓度检测是近几年的热点研究方向。2020 年关于细胞内浓度的专家共识被提出,为相关检测研究提供了参考^[14]。目前已存在多项 PBMC 的检测方法。一些研究建立了基于 LC-MS/MS 技术测定 PBMC 中他克莫司和依维莫司浓度的方法^[16-17];Romano 等^[18]也建立了准确检测高纯化 PBMC、T 细胞、B 细胞悬浮液中他克莫司的方法,有效提高检测灵敏度。随着磁珠法的兴起,2023 年, Xu 等^[19]使用磁珠提取法联合 LC-MS/MS 技术同时监测 PBMC 中他克莫司和霉酚酸浓度;多项研究调查了 PBMC 中药物浓度与总药物浓度检测之间的相关性,结果大多仅显示出微弱甚至没有相关性^[14-15, 19-20];这也许是总药物浓度难以准确反映药效的原因之一。需要注意的是,在测量细胞内药物浓度之

前,细胞分离过程的有效性和标准化与后续测量同等重要。研究显示,添加 P-糖蛋白抑制剂^[14, 21-22]是防止药物在细胞分离过程中丢失的有效手段,能够提高检测结果的可靠性。

PBMC 中药物浓度具有重要临床意义,相比于全血/血浆样本中总药物浓度检测,它能更直观的反映治疗作用靶点的药物水平,帮助临床精准用药,有效优化移植患者的治疗。随着未来仪器及技术的精细化, PBMC 中药物浓度的检测或许能得到进一步发展。

2.2 基于微量样本的免疫抑制剂检测

2.2.1 干血斑药物浓度检测 干血斑是一种比较成熟的微采样技术,其在 ISDs TDM 项目中也应用广泛。常用的干血斑样本采集方法是自由落体或通过接触滤纸(即直接从手指或脚跟刺入),2019 年发布的官方指南有效指导了干血斑的治疗药物监测方法的开发和验证^[23]。近五年也有研究从多角度对干血斑在 ISDs TDM 的应用进行了详细的介绍和总结^[24-26]。需要注意的是,干血斑样本检测面临许多挑战,如红细胞比容(hematocrit, Hct)效应等,但已有许多研究提出了解决方案。Bressán 等^[27]通过采用纸盘干燥基质来消除 Hct 的影响,取得了良好的效果;定量干燥血点装置也被用来克服 Hct 带来的干扰^[28];另一项研究中采用了非接触式 Hct 预测策略,与全自动干血斑分析相结合,可以用于充分校正免疫抑制剂浓度^[29]。以上结果均说明了随着技术不断发展,可能有效克服干血斑检测的常见障碍,得以实现广泛应用。此外,一项研究对干血斑上他克莫司和霉酚酸的同时测定方法进行了临床验证,结果显示与临床样本良好的相关性^[30];最近多项基于 LC-MS/MS 技术检测干血斑中多种免疫抑制剂的方法也声称,其检测结果与静脉血样本检测结果具有一致性^[26, 31];值得注意的是,相较于他克莫司,西罗莫司和依维莫司在高温下不稳定,并且更易受 Hct 影响,通过干血斑中西罗莫司和依维莫司浓度检测的应用仍需进行进一步优化^[32]。

干血斑检测优势在于采血量少、允许患者自我采样,便捷且对患者友好;样本干燥后便于运输和保存,尤其是异地运输和储存。虽然干血斑检测应用于 ISDs TDM 项目仍存在一定挑战,但随着研究推进和技术进步,未来干血斑有望成为 ISDs TDM 的重要样本检测类型。

2.2.2 体积吸收微量采样药物浓度检测 体积吸收微量采样(volumetric absorptive microsampling, VAMS)是一种新型微量采样技术。VAMS 使用吸头装置,利用毛细管作用可在几秒钟(2~4 s)内吸收固定体积的样本(10~50 μL),具有取样较快、侵入性小、操作便捷的优势^[33-35]。此外,与干血斑相比较,VAMS 吸取固定体积,检测更加准确,并且能有效克服 Hct 影响药物浓度的问题,有望成为干血斑的替代方法^[36]。已有多项研究开发基于 VAMS 技术单独检测他克莫司或同时检测 5 种免疫抑制剂的 LC-MS/MS 方法^[37-40]。以上研究显示,VAMS 样本检测结果与常规静脉样本检测在经过校正后具有一致性。其中文献使用大气压电离(APCI) LC-MS/MS 法基于 VAMS 检测 5 种免疫抑制剂并对其性能进行了充分验证,结果表明准确度、精密性、稳定性等均满足性能标准,并且未发现 Hct 对任何分析物的回收率有影

响, VAMS 浓度与静脉血液中的药物浓度相关性良好^[38]。

VAMS 与干血斑具有部分相同的优势, 如微量采样、侵入性低, 便于运输和储存等。但 VAMS 比干血斑检测的准确率高, 而干血斑相较于 VAMS 装置成本更低。该 2 类检测均具有较高的发展潜力, 在未来研究中, 可以针对 2 种技术的不同优点进行进一步优化, 为患者和临床实验室提供多样性选择。

2.3 基于唾液样本的免疫抑制剂检测 免疫抑制剂的亲脂性使人体内游离部分药物可能有效渗透唾液, 使唾液中药物浓度检测成为可能。目前已有利用 LC-MS/MS 技术分别检测唾液中他克莫司、依维莫司和霉酚酸的方法^[41-43]; Paniagua-González 等^[44]开发了能同时检测唾液中 5 种免疫抑制剂的方法。但与临床常规检测的相关性分析显示, 唾液中霉酚酸浓度与血浆中浓度相关性不佳, 目前尚不能取代血浆中霉酚酸的检测^[45-46]。然而一篇最新研究评估了一种定量检测唾液中他克莫司的免疫抑制剂药物监测仪 (immunosuppressant drug monitor, IDM), 该研究声称其唾液药物浓度与血液药物浓度之间存在明显相关性^[47]。尚不清楚引起该类相关性差异的原因, 仍需对此进行进一步研究。目前已有大量关于唾液作为检测样本类型应用于其他 TDM 项目如抗癫痫类药物、抗抑郁药物等的研究^[48-50], 但唾液在 ISDs TDM 中的应用相对较少, 需要进一步探索。

基于唾液的药物检测无创、便捷, 对于虚弱移植患者十分友好^[51], 可有效提升患者依从性, 降低侵入性检查的风险。如能证实唾液中药物浓度检测的可靠性, 未来基于唾液的药物检测可能成为更便捷、低侵害的检测策略。

3 总结

本文总结了免疫抑制剂检测策略的研究进展。总的来说, 免疫法发展趋于成熟, 可满足现有临床需求; LC-MS/MS 技术飞速发展, 使检测的灵敏度和准确度在不断提升, 为各检测策略奠定了基础。全血/血浆中总药物浓度检测技术成熟, 高通量、高自动化, 可实现量值溯源; 血浆中游离药物浓度和细胞内药物浓度检测与药效相关性更好, 对指导临床调整用药、制定个性化用药方案具有重要意义; 干血斑和 VAMS 两种微量样本检测取样量小, 患者可居家自行操作, 便于远程运输和储存; 唾液检测无侵入性风险、取样方便, 对移植患者友好。多种检测策略的研究和发展, 为临床实验室免疫抑制剂检测提供了多样化选择。临床可根据遇到的不同问题合理选择不同检测策略, 精准调整用药剂量, 制定个体化用药方案, 提升患者生存质量。虽然各检测策略从开发到应用于临床, 中间需要经历不断地优化, 但随着技术的成熟, 越来越多问题已得到有效解决。相信未来各检测策略能合理应用于临床, 推动 ISDs TDM 向着更便捷、高效的方向发展。

4 参考文献

[1] Li QW, Lan PX. Activation of immune signals during organ transplantation[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 110.
[2] Seger C, Shipkova M, Christians U, et al. Assuring the proper ana-

lytical performance of measurement procedures for immunosuppressive drug concentrations in clinical practice: recommendations of the international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology immunosuppressive drug scientific committee [J]. Ther Drug Monit, 2016, 38(2): 170-189.
[3] 田普训, 敖建华, 李宁, 等. 器官移植免疫抑制剂临床应用技术规范(2019 版)[J]. 器官移植, 2019, 10(3): 213-226.
[4] Brunet M, van Gelder T, Åsberg A, et al. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus-personalized therapy: second consensus report[J]. Ther Drug Monit, 2019, 41(3): 261-307.
[5] Bergan S, Brunet M, Hesselink DA, et al. Personalized therapy for mycophenolate: consensus report by the international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology [J]. Ther Drug Monit, 2021, 43(2): 150-200.
[6] 陈文倩, 张雷, 张弋, 等. 实体器官移植他克莫司个体化治疗专家共识[J]. 实用器官移植电子杂志, 2022, 10(4): 301-308.
[7] Seger C, Salzmann L. After another decade: LC-MS/MS became routine in clinical diagnostics [J]. Clin Biochem, 2020, 82: 2-11.
[8] 李沐, 张倩, 张爽, 等. 2018 年中国医院治疗药物监测开展状况调查[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(24): 2087-2092.
[9] 郭琦, 周伟燕, 张天娇, 等. 治疗药物监测样本检测质量现状和标准化构想[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(8): 674-678.
[10] Taibon J, van Rooij M, Schmid R, et al. An isotope dilution LC-MS/MS based candidate reference method for the quantification of cyclosporine A, tacrolimus, sirolimus and everolimus in human whole blood [J]. Clin Biochem, 2020, 82: 73-84.
[11] Bittersohl H, Schniedewind B, Christians U, et al. A simple and highly sensitive on-line column extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of protein-unbound tacrolimus in human plasma samples [J]. J Chromatogr A, 2018, 1547: 45-52.
[12] Bittersohl H, Herbing J, Wen M, et al. Simultaneous determination of protein-unbound cyclosporine A and mycophenolic acid in kidney transplant patients using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Ther Drug Monit, 2017, 39(3): 211-219.
[13] Stienstra NA, Sikma MA, van Dapperen AL, et al. Development of a simple and rapid method to measure the free fraction of tacrolimus in plasma using ultrafiltration and LC-MS/MS [J]. Ther Drug Monit, 2016, 38(6): 722-727.
[14] Lemaitre F, Vethe NT, D'Avolio A, et al. Measuring intracellular concentrations of calcineurin inhibitors: expert consensus from the international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology expert panel [J]. Ther Drug Monit, 2020, 42(5): 665-670.
[15] Sallustio BC. Monitoring intra-cellular tacrolimus concentrations in solid organ transplantation: use of peripheral blood mononuclear cells and graft biopsy tissue [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 733285.
[16] Pensi D, De Nicolò A, Pinon M, et al. First UHPLC-MS/MS method coupled with automated online SPE for quantification both of tacrolimus and everolimus in peripheral blood mononuclear cells and its application on samples from co-treated pediatric patients [J]. J Mass Spectrom, 2017, 52(3): 187-195.
[17] Bahmany S, de Wit LEA, Hesselink DA, et al. Highly sensitive

- and rapid determination of tacrolimus in peripheral blood mononuclear cells by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(1): e4416.
- [18] Romano P, da Luz Fernandes M, de Almeida Rezende Ebner P, *et al*. UPLC-MS/MS assay validation for tacrolimus quantitative determination in peripheral blood T CD4⁺ and B CD19⁺ lymphocytes [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 152: 306-314.
- [19] Xu H, Liu YY, Zhang YN, *et al*. Dynamic monitoring of intracellular tacrolimus and mycophenolic acid therapy in renal transplant recipients using magnetic bead extraction combined with LC-MS/MS[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(9): 2318.
- [20] Francke MI, Hesselink DA, Li Y, *et al*. Monitoring the tacrolimus concentration in peripheral blood mononuclear cells of kidney transplant recipients[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, 87(4): 1918-1929.
- [21] Udomkarnjananun S, Eiamsitrakoon T, de Winter BCM, *et al*. Should we abandon therapeutic drug monitoring of tacrolimus in whole blood and move to intracellular concentration measurements? [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2023. doi: 10.1111/bcp.15946
- [22] Udomkarnjananun S, Francke MI, Dieterich M, *et al*. P-glycoprotein, FK-binding protein-12, and the intracellular tacrolimus concentration in T-lymphocytes and monocytes of kidney transplant recipients[J]. *Transplantation*, 2023, 107(2): 382-391.
- [23] Capiu S, Veenhof H, Koster RA, *et al*. Official international association for therapeutic drug monitoring and clinical toxicology guideline: development and validation of dried blood spot-based methods for therapeutic drug monitoring[J]. *Ther Drug Monit*, 2019, 41(4): 409-430.
- [24] Deprez S, Stove CP. Dried blood microsampling-assisted therapeutic drug monitoring of immunosuppressants: an overview [J]. *J Chromatogr A*, 2023, 1689: 463724.
- [25] Klak A, Pauwels S, Vermeersch P. Preanalytical considerations in therapeutic drug monitoring of immunosuppressants with dried blood spots[J]. *Diagnosis*, 2019, 6(1): 57-68.
- [26] Deprez S, Stove CP. Fully Automated dried blood spot extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for therapeutic drug monitoring of immunosuppressants[J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1653: 462430.
- [27] Bressán IG, Giménez MI, Llesuy SF. Validation of a simple liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of tacrolimus, sirolimus, everolimus and cyclosporin A in dried matrix on paper discs[J]. *J Mass Spectrom Adv Clin Lab*, 2021, 19: 7-19.
- [28] Deprez S, van Uytvanghe K, Stove CP. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for therapeutic drug monitoring of immunosuppressants and creatinine from a single dried blood spot using the Capitainer? qDBS device [J]. *Anal Chim Acta*, 2023, 1242: 340797.
- [29] Deprez S, Heughebaert L, Boffel L, *et al*. Application of non-contact hematocrit prediction technologies to overcome hematocrit effects on immunosuppressant quantification from dried blood spots [J]. *Talanta*, 2023, 254: 124111.
- [30] Paniagua-González L, Lendoiro E, Otero-Antón E, *et al*. Comparison of conventional dried blood spots and volumetric absorptive microsampling for tacrolimus and mycophenolic acid determination[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 208: 114443.
- [31] Le J, Peng R, Yang SL, *et al*. Quantification of immunosuppressants from one 3.2mm dried blood spot by a novel cold-induced phase separation based LC-MS/MS method[J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1210: 339889.
- [32] 张瑞霞, 张弋. 非常规样本在免疫抑制剂治疗药物监测中的应用进展[J]. *实用器官移植电子杂志*, 2020, 8(1): 76-80.
- [33] Nugraha RV, Yunivita V, Santoso P, *et al*. Analytical and clinical validation of assays for volumetric absorptive microsampling (VAMS) of drugs in different blood matrices: a literature review [J]. *Molecules*, 2023, 28(16): 6046.
- [34] Kok MGM, Fillet M. Volumetric absorptive microsampling: current advances and applications[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 147: 288-296.
- [35] Protti M, Mandrioli R, Mercolini L. Tutorial: volumetric absorptive microsampling (VAMS) [J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1046: 32-47.
- [36] Parker SL, Dorofaeff T, Lipman J, *et al*. Is there a role for microsampling in antibiotic pharmacokinetic studies? [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2016, 12(6): 601-614.
- [37] Koster RA, Niemeijer P, Veenhof H, *et al*. A volumetric absorptive microsampling LC-MS/MS method for five immunosuppressants and their hematocrit effects[J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(6): 495-508.
- [38] Paniagua-González L, Díaz-Louzao C, Lendoiro E, *et al*. Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS) for assaying immunosuppressants from venous whole blood by LC-MS/MS using a novel atmospheric pressure ionization probe (UniSpray) [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 189: 113422.
- [39] Wang XQ, Dai XH, Wan SQ, *et al*. A volumetric absorptive microsampling UPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of tacrolimus, mycophenolic acid and creatinine in whole blood of renal transplant recipients [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(12): 2547.
- [40] Kocur A, Marszałek D, Rubik J, *et al*. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus based on volumetric absorptive microsampling technique (VAMS) in renal transplant pediatric recipients-LC-MS/MS method development, hematocrit effect evaluation, and clinical application[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(1): 299.
- [41] Ghareeb M, Akhlaghi F. Development and validation of a sensitive and selective LC-MS/MS method for determination of tacrolimus in oral fluids[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1038: 136-141.
- [42] Molenaar-Kuijsten L, Verheijen RB, Jacobs BAW, *et al*. Everolimus concentration in saliva to predict stomatitis: a feasibility study in patients with cancer[J]. *Ther Drug Monit*, 2022, 44(4): 520-526.
- [43] Sobiak J, Resztak M, Banasiak J, *et al*. High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for mycophenolic acid determination in saliva samples [J]. *Pharmacol Rep*, 2023, 75(3): 726-736.
- [44] Paniagua-González L, Lendoiro E, Otero-Antón E, *et al*. A multi-drug LC-MS/MS method for the determination of five immunosuppressants in oral fluid [J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(16): 1509-

- 1521.
- [45] Brooks E, Tett SE, Isbel NM, *et al.* Investigation of the association between total and free plasma and saliva mycophenolic acid concentrations following administration of enteric-coated mycophenolate sodium in adult kidney transplant recipients[J]. Clin Drug Investig, 2019, 39(12): 1175-1184.
- [46] Cossart AR, Staatz CE, Gorham G, *et al.* Comparison of free plasma versus saliva mycophenolic acid exposure following mycophenolate mofetil administration in adult kidney transplant recipients[J]. Clin Biochem, 2022, 100: 78-81.
- [47] Charlès L, Lupon E, Sheth T, *et al.* Immunosuppressant drug monitor: a non-invasive device to measure tacrolimus level in the saliva of transplanted patients[J]. Int J Pharm, 2024, 653: 123858.
- [48] Franco V, Gatti G, Mazzucchelli I, *et al.* Relationship between saliva and plasma rufinamide concentrations in patients with epilepsy [J]. Epilepsia, 2020, 61(7): e79-e84.
- [49] Dziurkowska E, Wesolowski M. Isolation of antidepressants and their metabolites from saliva using supported liquid extraction (SLE)[J]. Biomedicines, 2023, 11(3): 708.
- [50] Chiş IA, Andrei V, Muntean A, *et al.* Salivary biomarkers of anti-epileptic drugs: a narrative review [J]. Diagnostics, 2023, 13(11): 1962.
- [51] Patrick M, Parmiter S, Mahmoud SH. Feasibility of using oral fluid for therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2021, 46(2): 205-223.

(收稿日期:2024-02-22)

(本文编辑:王海燕)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

临床检验杂志网站及远程稿件处理系统开通

为方便读者投稿、专家审稿并加快杂志出版周期及提升办刊质量,本刊开通网站和远程稿件处理系统。系统包括作者远程投稿系统、专家远程审稿系统、编辑在线办公系统、网上期刊发行系统及读者订阅系统等。为方便作者、读者和审稿专家熟悉使用本系统,现将有关注意事项告知如下:

1. 第一次使用本系统的作者登录本刊网站(www.lcyjzz.com)后点击用户登录菜单下的作者投稿进行注册,注册时请按要求逐项填写完整,所填内容必须真实。注册完成后即可在线投稿,系统在作者投稿成功后自动将相关信息发至作者指定邮箱。一次注册,长期有效。请务必注意不要重复注册。

2. 投稿后,作者以注册时设定的用户名(E-mail)和密码登录投稿系统,可随时了解稿件的编审进程。

3. 编委和审稿专家可以用同一用户名登录审稿系统或以作者身份投稿。

4. 在使用过程中如遇问题或有好建议请和我们联系,联系电话:025-83620683;E-mail:editor@lcyjzz.com 或 lcyjzz@163.com。

《临床检验杂志》编辑部