Методология доклинических исследований

https://doi.org/10.29296/978-5-7724-0177-4-s3

М. М. Галагудза[1], Я. А. Гущин[2], И. Н. Исакова-Сивак[3], Д. Д. Карал-оглы[4], М. А. Ковалева[5], М. Л. Ловать[6], Я. Г. Муразов[7], В. С. Попов[6], Е. В. Шипаева[8]

[1] *ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России,*
[2] *АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,*
[3] *ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,*
[4] *ФГБНУ «НИИ МП»,*
[5] *ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации»,*
[6] *ФФМ МГУ, Rus-LASA,*
[7] *ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России,*
[8] *АО «Р-Фарм»*

Начиная с конца XIX века научные исследования по оценке эффективности и безопасности лекарственных препаратов проводили в крупных научно-исследовательских центрах, имеющих одно или несколько основных направлений деятельности. Группы ученых, следуя традиции своего научно-исследовательского института, накопленному опыту, разработанным методам, передаваемым «из рук в руки», всесторонне изучали эффекты лекарственного препарата и на основании полученных результатов делали вывод о его дальнейшей судьбе, т. е. о возможности или невозможности применения в клинической практике. Результатом таких исследований могли быть публичное заявление руководителя центра, справка, отчет или публикация. С 70-х годов XX века произошло множество изменений в отношении представления результатов научных исследований.

В связи с процессом гармонизации требований в Европейском обществе и вступлением России в ЕАЭС прошел пересмотр требований к проведению доклинических исследований. Разработано множество соподчиненных документов разного уровня, регламентирующих дизайн и объем исследований в зависимости от типа препарата, методов исследования и т. п.

Основными целями доклинических исследований являются:

- выявление фармакологического действия веществ;
- определение фармакологически активных доз веществ;

- выбор потенциальной стартовой дозы, режима повышения дозы, диапазона безопасных доз и режима дозирования действующего вещества в клинических исследованиях;
- установление выполнимости предлагаемого клинического пути введения и его приемлемой безопасности;
- обоснование критериев отбора пациентов;
- определение физиологических параметров, подлежащих контролю в ходе клинического наблюдения;
- выявление потенциальных рисков для здоровья населения.

Качество данных и их интерпретация на этапе доклинических исследований имеют определяющее значение, поэтому для всех центров, проводящих доклинические исследования, существуют правила надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice, GLP) (ГОСТ 33044–2014, 2021). Вопросы повышения качества регулируемых и нерегулируемых исследований были рассмотрены в рамках пленарной сессии на конференции GLP-PLANET II. Своими взглядами поделились Галина Нинелевна Енгалычева [1], Антон Юрьевич Беспалов [2] и другие специалисты отрасли.

Несмотря на множество нормативных документов, призванных повышать качество исследований, а также на проводимые во всем мире циклы обучения специалистов, сфера доклинических исследований испытывает так называемый **кризис невоспроизводимости**. По оценкам научного сообщества, невоспроизводимость доклинических (в том числе и фундаментальных) исследований варьирует от 75 до 90 % (Chalmers I. и соавт., 2014; Ioannidis J. P. и соавт., 2014; Glasziou P. и соавт., 2014; Al-Shahi Salman R. И соавт., 2014; Chan A. W. и соавт., 2014), что может быть связано с низким качеством проведенного исследования, отсутствием детального описания используемых методов анализа и выбора тест-систем, объемом выборки, ошибками при разработке программы доклинических исследований или интерпретацией полученных данных, а также с реализацией принципа «publish or perish» («публикуйся или умри») (Begley C. G., Ioannidis J. P. A., 2015).

Этот вопрос поднимается научным сообществом уже на протяжении многих лет и обсуждается на многочисленных конференциях. Именно с этой проблемы начал свой доклад «Валидность и воспроизводимость результатов преклинических исследований: пути выхода из «трансляционного тупика»» [3] Михаил Михайлович Галагудза (ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»). Он рассказал, что, согласно данным литературы, 85 % фундаментальных и клинических биомедицинских исследований фактически оказываются невостребованными вследствие ошибочного дизайна, а также отсутствия публикации и неадекватного представления данных. Данный факт находит отражение в целом ряде проблем этического, экономического и социального характера.

Таким образом, одним из подходов для преодоления **«кризиса невоспроизводимости»** является детальное и тщательное планирование доклинических

[1] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/engalycheva-g.n..pdf
[2] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/bespalov-a.yu..pdf
[3] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/galagudza-m.m..pdf

исследований с подробным представлением материалов и методов исследования (включая детальную характеристику животных и методов статистической обработки) в статьях и итоговых отчетах о научно-исследовательской работе.

Релевантность тест-системы

Трудно переоценить вклад лабораторных животных в развитие науки. Отечественные и зарубежные исследователи точно знают сколь многим человечество обязано животным.

В центре Санкт-Петербурга на Аптекарском острове, на территории Института экспериментальной медицины стоит памятник собаке, который был открыт 7 августа 1935 г. На постаменте памятника с четырех сторон начертаны высказывания великого физиолога И. П. Павлова о выдающейся роли собаки как вида в прогрессе медицины: «Пусть собака, помощница и друг человека с доисторических времен приносится в жертву науке, но наше достоинство обязывает нас, чтобы это происходило непременно и всегда без ненужного мучительства».

Почти каждый из лауреатов Нобелевской премии по физиологии и медицине с 1901 г. опирался в своих открытиях на данные, полученные в экспериментах *in vivo*. Американская ассоциация по фундаментальным исследованиям на лабораторных животных (American Association for Laboratory Animal Science Foundation, AALAS) опубликовала плакат Animal Roles in Medical Discoveries Poster [4], в котором перечислены Нобелевские премии по медицине и физиологии, присуждаемые с 1906 по 2017 г., и показана роль разных животных в этих открытиях.

Сегодня в качестве тест-систем для проведения доклинических исследований используются клеточные линии, простейшие, грибы, гельминты, насекомые, рыбы, лабораторные животные (мыши, крысы, кролики, собаки, лабораторные приматы и др.), а также методы *in silico*. В своем докладе «Предсказательная токсикология с использованием (Q) SAR: эффективное использование различных моделей для разнообразных токсических эффектов» [5] Рустем Саяхов (MultiCASE Inc, Beachwood, OH USA) рассказал о возможностях (Q) SAR моделирования, позволяющего не использовать живые тест-системы для проведения доклинических исследований.

Описание выбора того или иного вида животных для включения в исследование является главным вопросом, на который должен ответить исследователь. Адекватный выбор вида лабораторных животных для конкретного типа исследования (фармакодинамика, фармакокинетика, изучение токсических свойств и т. д.) позволяет

[4] https://www.aalas.org/store/detail?productId=191
[5] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/sayahov-r..pdf

рационально использовать ресурсы, необходимые для обеспечения жизненного цикла лекарственного препарата.

Основными условиями для правильного выбора релевантного вида лабораторного животного для исследования являются:

1) размер животных, который определяет возможность:
   - введения и оптимизацию расхода тестируемых объектов в исследовании;
   - проведения инструментальных исследований;
   - забора биологических образцов в объеме, достаточном для получения всех необходимых показателей;
2) сходство строения и функционирования органов и систем на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях у человека и релевантного вида животных, которые определяют схожесть метаболических путей и метаболитов;
3) при исследовании фармакодинамики — подобие, клинической картины моделируемой патологии у животного с таковой при заболевании у человека.

Эти вопросы отчасти рассматриваются в Решении ЕАЭК № 89 от 03.11.16 «Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств» [6]. Однако создание алгоритмов выбора релевантных тест-систем, которые будут учитывать вопросы трансляционности полученных данных в клинику, на сегодняшний день остается актуальной задачей.

В зарубежной литературе активно публикуются и обсуждаются такие алгоритмы. Например, в работе Y.-W. Son и соавт. (2020) представлены алгоритмы выбора видов лабораторных животных, не относящихся к грызунам, для проведения регуляторных исследований по изучению токсических свойств **(рис. 1)**.

О возможностях использования карликовых свиней в доклинических исследованиях рассказал в своем докладе Dr. Lars Friis Mikkelse (Ellegaard Göttingen Minipigs) [7]. Он представил основные направления исследований, в которых карликовые свиньи являются незаменимой моделью и подчеркнул, что именно верный выбор вида для решения научной задачи способствует реализации принципов «3Rs». Также он предложил участникам конференции подробнее изучить сайт компании Ellegaard Göttingen Minipigs [8], на котором постоянно публикуются материалы по вопросам использования данного вида животных в исследовании, их содержания и разведения.

Высокой степенью трансляционности обусловлен выбор нечеловекообразных приматов для изучения препаратов на основе моноклональных антител (Iwasakia K. и соавт., 2019).

О применении нечеловекообразных обезьян в доклинических исследованиях рассказала и Джина Джинаровна Карал-Оглы [9] (НИИ медицинской приматологии»), она охарактеризовала разные виды приматов, а также алгоритмы ввода животных в исследование.

---

[6] https://docs.cntd.ru/document/456026116

[7] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/lars-f.m._scientific-advantages-of-using-gm-in-biomedical-research.pdf

[8] https://minipigs.dk/

[9] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/karal-ogly-d.d..pdf

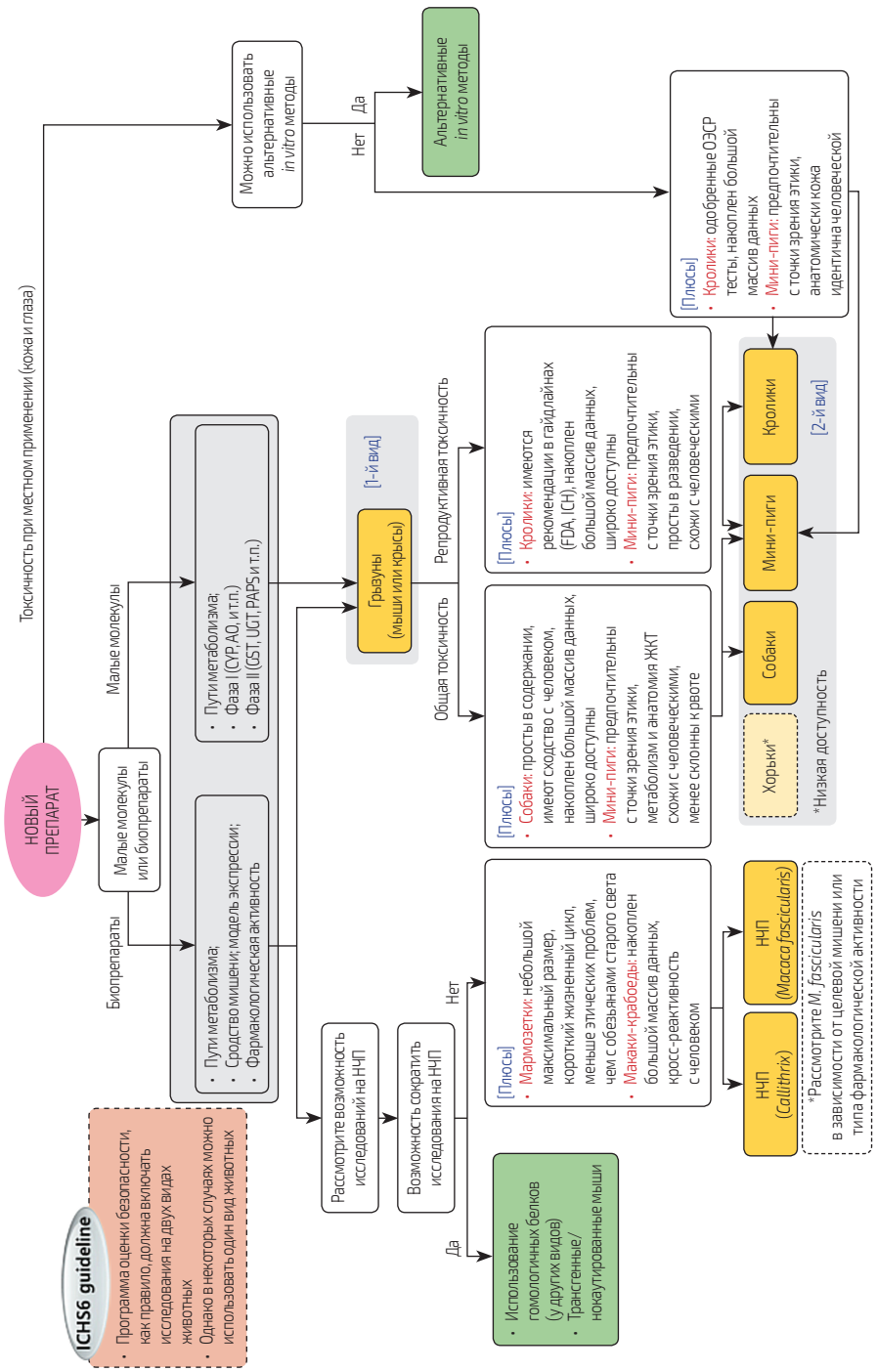


Рис. 1. Алгоритмы выбора видов лабораторных животных, не относящихся к грызунам, для проведения регуляторных исследований. НЧП — нечеловеческие приматы; CYP — цитохром; AO — альдегидоксидаза; GST — глутатионтрансфераза; PAPS — 3'-фосфоаденозин-5'-сульфофосфат; UGT — глюкуронозилтрансферазы (Son Y.-W. и соавт., 2020).

Объем выборки

Говоря об объеме выборки, важно отметить, что принципы «3Rs» (принципы гуманной методики эксперимента) являются общепринятым мировым стандартом, который позволяет в значительной степени сократить число лабораторных животных. На конференции вопросы достаточности и оптимальности выборки были подняты в докладах:

- Елены Владимировны Шипаевой (АО «Р-Фарм») [10],
- Владимира Сергеевича Попова (ФФМ МГУ, президент Rus-LASA) [11],
- Галины Нинелевны Енгалычевой (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) [12].

При этом очень важно, как неоднократно подчеркивали специалисты, чтобы сокращение количества животных не противоречило интересам исследования и не снижало достоверности полученных экспериментальных данных. В статье М. Н. Макаровой и соавт. (2018) анализируются основные подходы к определению объема выборки экспериментальных животных при разном уровне доступности предварительных сведений об изучаемом лекарственном средстве. Даны примеры использования методов «Power and Sample Size Analysis» и «выравнивания ресурса» как способов оценки достаточности выборки экспериментальных животных. Рассмотрены основные подходы к выбору количества животных при изучении острой токсичности по некоторым зарубежным и российским руководствам. Проанализирован метод расчета объема выборки в случае достаточного количества предварительных экспериментальных данных на примере оценки биохимических параметров в ходе исследования хронической токсичности. Систематизированы рекомендации зарубежных агентств, регулирующих обращение лекарственных средств, по выбору количества экспериментальных животных в зависимости от длительности исследования, возраста и других факторов.

В работе И. В. Александрова и соавт. (2017) также были рассмотрены ключевые аспекты определения размера выборки и статистического анализа. По мнению авторов, это мероприятие позволяет уменьшить риск систематических ошибок.

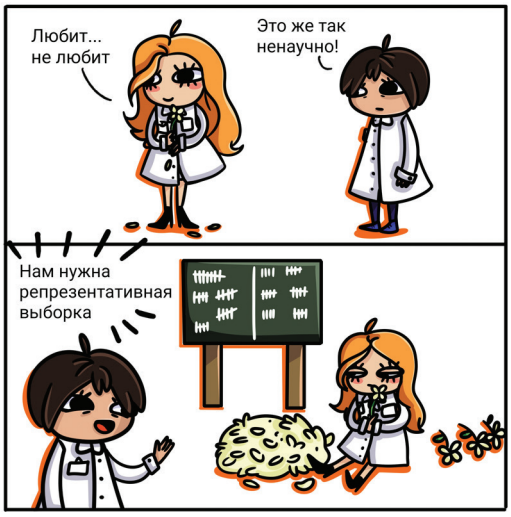
Такой анализ должен быть проведен на этапе планирования и подачи протокола исследования в комиссию по биоэтике на основе следующих исходных данных: 1) ожидаемая величина эффекта тестируемого воздействия; 2) ожидаемая вариабельность ключевого параметра (стандартное отклонение); 3) уровень значимости и 4) установленная статистическая мощность. По данным, опубликованным в Lancet (2014), менее 2 % публикаций с использованием животных содержит описание расчета размера выборки (R. Al-Shahi Salman и соавт., 2014).

В целом для определения объема выборки можно использовать несколько подходов:

1. Регуляторный — например, применение стандартных протоколов OECD для проведения исследования.

[10] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/shipaeva-e.v..pdf
[11] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/popov-v.s.-2.pdf
[12] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/engalycheva-g.n..pdf

2. Статистический — определение объема выборки на стадии планирования исследования, используя статистические программы.
3. Этический — в зависимости от выбора вида животных руководствоваться принципами «3Rs» и включать минимальное количество лабораторных животных в исследования. Допустимо включение двух животных в группу при использовании высокоорганизованных тест-систем (обезьяны, собаки и др.).



4. Подход предиктивной валидности для хорошо воспроизводимой модели, т. е. для ряда исследований объем выборки может определяться на основании ранее проведенных исследований с использованием одного дизайна и вида лабораторных животных.

Выбор доз для исследования

В основе межвидового переноса доз лежат работы физиолога Макса Рубнера, в которых говорилось о том, что скорость обмена веществ у птиц и млекопитающих пропорциональна площади поверхности их тела (Rubner M., 1883).

В дальнейшем эти теоретические рассуждения нашли экспериментальное и статистическое подтверждение в работах разных авторов (Brody S., Proctor T. C., 1932; Kleiber M., Dougherty J. E., 1991).

В работе Альфреда Хеснера в 1991 г. **(рис. 2)** при исследовании 391 вида млекопитающих была показана прямая связь между массой тела и основным обменом.

Вертикальные линии на рис. 2 делят выборку данных на четыре группы животных примерно равного размера (Heusner A. A., 1991).

Общепринято рассчитывать действующие дозы лекарственных средств или химических соединений (при изучении степени их токсичности) на единицу массы тела человека или животных. Вместе с тем в фармакологии четко установлено, что для достижения изоэффективной реакции у мелких и крупных животных дозы не изменяются пропорционально массе их тела. Как правило, дозы для крупных животных возрастают значительно меньше, чем можно было бы ожидать при пересчете их с массы мелких животных, и, наоборот, для животных с малой массой тела следует применять относительно большие дозы.

При планировании и проведении токсического исследования часто возникает потребность в межвидовых пересчетах доз. Это существенная проблема, поскольку сегодня не существует универсального алгоритма пересчета доз для всех классов

фармакологических соединений. Принципиально, что выбор способа перерасчета дозы всегда должен быть научно обоснован.

В основном в научной литературе рассматривается проблема выбора дозы лекарственного средства для инициации клинических исследований (1-я фаза). При проведении доклинических исследований также необходимо решать вопросы о выборе доз для изучения токсических и фармакологических эффектов препаратов. Основные подходы, которые применяются для трансляции доз в клинические исследования, могут быть использованы также для выбора и обоснования доз при планировании и проведении доклинических исследований.

В работе Е.В. Шекуновой и соавт. (2020) представлен обзор основных методов, которые могут быть использованы для выбора и обоснования доз при планировании и проведении доклинических исследований: межвидовой перенос доз с применением коэффициента, учитывающего разницу в площади поверхности тела; рассмотрены случаи, когда возможен прямой перенос доз в пересчете на единицу массы тела; отдельное внимание уделено вопросу межвидового переноса доз на основании данных фармакокинетических исследований. Отмечено, что универсального подхода

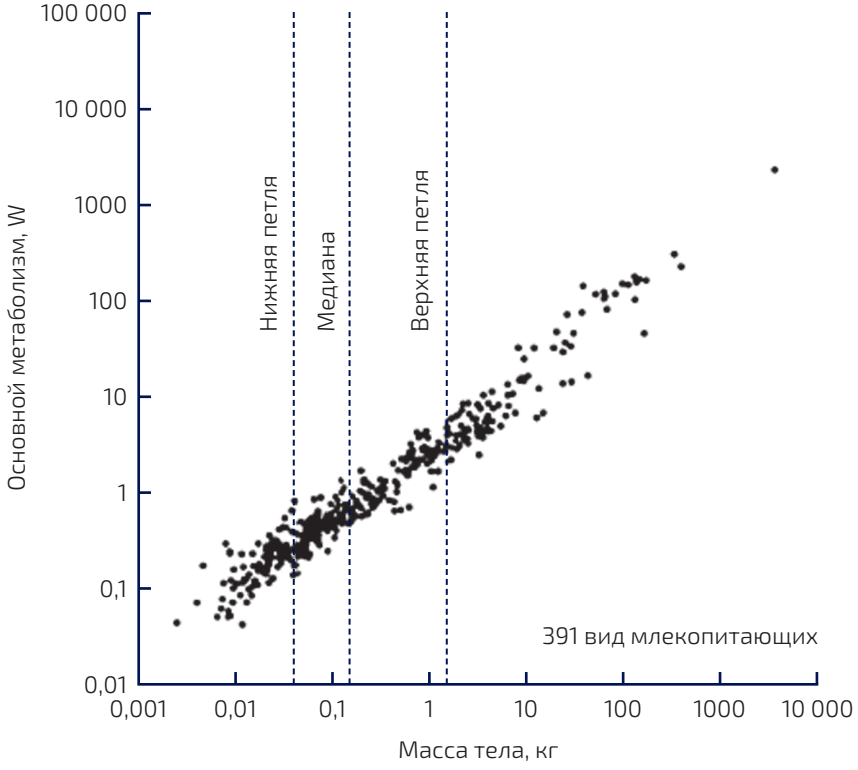


Рис. 2. Билогарифмическая диаграмма рассеивания основного метаболизма и массы тела у 391 вида млекопитающих

для межвидовой трансляции доз не существует и всегда необходимо учитывать весь объем информации относительно изучаемого препарата, в том числе особенности его химической структуры, способ его планируемого применения, фармакокинетические параметры, данные доклинического и клинического изучения фармакодинамических параметров, наличие межвидовых особенностей фармакокинетики и фармакодинамики.

В ряде нормативных документов также рассматриваются вопросы выбора доз. Среди них:

- Guidance document on inhalation toxicity studies Series on Testing and Assessment № 39 [13];
- Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [14];
- ICH M3 (R2) «Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals» [15];
- Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 ноября 2019 г. № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» [16].

Важно помнить, что выбор доз для исследования сопряжен с вопросом объемов введения тестируемых объектов. Исследователи проводят анализ международных и отечественных рекомендаций по объемам введения лекарственных средств наиболее часто используемым видам лабораторных животных, что позволяет предлагать оптимальные объемы введения (Кательникова А. Е. и соавт., 2019; Рыбакова А. В. и соавт., 2018; Трофимец Е. И. и соавт., 2020).

Конечные точки исследования

В докладе Екатерины Александровны Кушнир (ООК ИЦ ВЭК, секретарь комиссии по биоэтике МГУ) [17] были рассмотрены вопросы оценки степени тяжести процедур, проводимых на лабораторных животных, предотвращения боли и дистресса у экспериментальных животных. Именно оценка степени тяжести манипуляций служит для назначения гуманных конечных точек.

В рамках сессии «Доклинические исследования: о чем не принято писать в научном отчете?» были подняты вопросы о необходимости пересмотра дизайна доклинических исследований перспективных противоопухолевых средств. Ярослав Геннадьевич Муразов (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России) в своем докладе [18] говорил о необходимости изменения подходов к выбору сайтов для трансплантации сингенных опухолей и PDX-моделей, а также сроков начала

[13] https://www.oecd.org
[14] https://www.fda.gov/
[15] https://www.ema.europa.eu/en
[16] https://docs.cntd.ru/document/563887387
[17] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/kushnir-e.a..pdf
[18] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/murazov-ya.g..pdf

экспериментальной терапии. По мнению Я. Г. Муразова, оценка общей выживаемости на доклиническом этапе изучения противоопухолевых средств должна стать золотым стандартом, как это принято в клинических исследованиях. В первую очередь речь идет о средствах, применяемых для лечения жизнеугрожающих состояний — распространенных (метастатических) форм злокачественного процесса. Известно, что из-за агрессивной природы некоторых моделей трансплантируемых опухолей наблюдается крайне быстрая гибель животных в эксперименте. В этом случае заблаговременно вывести животных из исследования, руководствуясь принципами «3Rs», на основании только данных о кинетике роста опухоли не представляется возможным. Такой подход обеспечивает получение однозначных данных по общей выживаемости животных, позволяя избежать дальнейших ошибок в интерпретации полученных результатов для предстоящих клинических исследований перспективных средств терапии рака. Кроме того, преждевременная эвтаназия животных может маскировать истинный противоопухолевый эффект тестируемых агентов. Наряду с оценкой общей выживаемости в экспериментальной онкофармакологии необходимо приблизить оценку ответа опухоли на проводимое лечение к конечным точкам, применяемым в клинической практике (использовать критерии RECIST, Response Evaluation Criteria In Solid Tumours), что позволит выработать единые ориентиры эффективности и обеспечить трансляционность данных. Алгоритм оценки ответа экспериментальных опухолей по критериям RECIST в различных модификациях уже реализуется за рубежом (Guo S. и соавт., 2019). Отдельной проблемой является выбор конечных точек при использовании в доклинических испытаниях асцитных опухолей.

Патоморфологические исследования

Практически каждое доклиническое исследование включает патоморфологический как макроскопический, так и микроскопический анализ. Полученные результаты являются опорными и помогают исследователю не только оценить, какие изменения произошли в организме животного под воздействием тестируемого препарата, но и понять, в каких органах или тканях. В 2020 г. были введены в действие рекомендации Коллегии ЕЭК № 10 «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения».

На конференции GLP-PLANET II Ярослав Александрович Гущин (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») в своем докладе [19] говорил о проблемах, с которыми может столкнуться в своей работе специалист при попытке строго следовать Рекомендации ЕЭК № 10, а также предложил возможные способы решения. Также он рассказал о своем публикационном опыте в журнале **«Лабораторные животные для научных исследований»** [20], где представлен цикл статей по некропсии разных видов животных. Я. А. Гущин отметил, что в нашей стране крайне мало литературы,

[19] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/gushhin-ya.a..pdf
[20] http://labanimalsjournal.ru/ru

посвященной морфологии и гистологии лабораторных животных, и указал на важность создания отечественных порталов контрольных исторических данных такого типа, как FOCUSONTOXPATH [21].

Интерпретация результатов исследования

С целью обеспечения адекватной интерпретации полученных результатов, а также для оценки полученных данных большое внимание испытательные центры уделяют созданию **внутрилабораторных баз данных референсных интервалов** по наиболее часто используемым показателям. В первую очередь это показатели, изучаемые в исследованиях токсичности при многократном введении, — массовые коэффициенты органов, гематологические и биохимические данные (Войтенко Н. Г. и соавт., 2020; Макарова М. Н., Зуева А. А., 2020; Войтенко Н. Г., Макарова М. Н., 2020; Войтенко Н. Г. и соавт., 2020a; Луговик И. А., Макарова М. Н., 2021; Сорокина А. В. и соавт., 2019a; Сорокина А. В. и соавт., 2019b).

Как правило, такие базы создаются на основании ретроспективной оценки с использованием стандартных процедур (CLSI Document C28-A3c, 2010; ГОСТ Р53022–3, 2008). Также рекомендуется использовать базы исторических контрольных данных при интерпретации полученных результатов, это могут быть внутренние базы данных или внешние, например The National Toxicology Program [22], DevTox [23] и многие другие.

Артем Романович Доротенко (ГЕРОФАРМ) [24] поделился опытом использования биостатистических методов при проведении исследований: связывание с мишенью (binding assays), биологическая активность (functional assays), фармакокинетика и фармакодинамика *in vivo* (PK/PD *in vivo* models). Отдельное внимание он уделил вопросу статистических аспектов планирования исследования эквивалентности (конечные точки, расчет выборки по имеющимся данным, запланированный до старта исследования план анализа данных).

Трансляционность и стандартизация биомедицинских исследований

Важным вопросом **стандартизации биомедицинских исследований** являются критерии включения лабораторных животных в экспериментальные группы. Здесь важнейшими параметрами, которые необходимо учитывать, кроме вида животного и пола, можно считать соотношение возраста и массы тела. В работе М. А. Акимовой и Д. Ю. Акимова (2021) проведена оценка массы тела морских свинок в различных половозрастных группах для дальнейшего рационального формирования экспериментальных групп при выполнении доклинических и биотрансляционных исследо-

[21] https://focusontoxpath.com/
[22] https://ntp.niehs.nih.gov/data/controls/index.html
[23] https://www.devtox.org/
[24] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/dorotenko-a.-1.pdf

ваний. Авторы подчеркивают, что современные российские стандарты по соотношению возраста и массы тела базируются на данных прошлого века, когда биометрические параметры животных отличались от указанных в современной литературе ввиду постоянного усовершенствования науки по содержанию лабораторных грызунов. В результате проведенного исследования были предложены диапазоны масс тела для лабораторных морских свинок в зависимости от пола и возраста. Наибольший научный интерес представляют половозрелые нерожавшие (в случае с самками) лабораторные животные в возрасте от 7 (самки) и 8 (самцы) до 22 нед. Заданные диапазоны возраста дают максимально рациональную возможность использования лабораторных животных, сохраняя приверженность правилам надлежащей лабораторной практики, «3Rs» — концепции, принципам биоэтики и гуманного обращения с животными.

На конференции GLP-PLANET II значимое внимание уделили вопросам трансляционности данных. Елена Владимировна Шипаева (АО «Р-Фарм») [25] в своем докладе рассказала о соотношении неудач и успеха доклинических и клинических исследований, о причинах **проблем трансляции данных**, привела примеры видовых различий действия лекарственных препаратов. Она также представила слушателям **критерии обоснованности модели**. После выступления участники сессии задали лектору множество вопросов, что еще раз подчеркивает актуальность данной темы.

Следует отметить, что вопросы трансляционности данных на конференции были подняты как со стороны спонсоров исследований, так и ведущих специалистов испытательных центров.

Итоговый отчет о научно-исследовательской работе

Результатом опорных доклинических исследований в большинстве случаев является **отчет о научно-исследовательской работе (НИР)**. Основные требования к отчету о НИР изложены в ГОСТе 7.32–2017 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления» [26]. Однако ГОСТ 7.32–2017 не дает исчерпывающих рекомендаций о том, в каком объеме должны быть описаны те или иные разделы отчета.

Вопрос о полноте и качестве изложения информации в отчете о НИР был поднят на конференции GLP-PLANET II. Мария Александровна Ковалева (ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации») в своем докладе [27] рассказала о возможности применения Руководящих принципов ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) [28] при подготовке отчета о НИР.

Руководящие принципы ARRIVE представляют собой контрольный список рекомендаций по улучшению отчетности об исследованиях с участием животных (*in vivo*), повышению качества и надежности опубликованных исследований,

[25] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/shipaeva-e.v..pdf
[26] https://docs.cntd.ru/document/1200157208
[27] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/kovaleva-m.a..pdf
[28] https://arriveguidelines.org/

при этом давая возможность другим ученым лучше изучать, оценивать и воспроизводить их. Следует отметить, что данный документ содержит список 20 контрольных тем, которые следует указать в отчете о НИР. Среди основных тем:

- титульный лист (пункт 1);
- резюме (пункт 2);
- введение (пункты: 3 — описание предпосылок исследования, 4 — описание целей), методы (пункты: 5 — биоэтические аспекты исследования, 6 — описание дизайна исследования, 7 — экспериментальные процедуры, 8 — информация о лабораторных животных, 9 — содержание и уход за лабораторными животными, 10 — обоснование объема выборки лабораторных животных, 11 — распределение лабораторных животных по экспериментальным группам, 12 — оцениваемые показатели, 13 — статистическая обработка полученных результатов);
- результаты (пункты: 14 — исходные данные или фоновые значения оцениваемых показателей, 15 — число наблюдений с объяснением причин исключения отдельных наблюдений из анализа, 16 — результаты и их интерпретация, 17 — неблагоприятные явления, описание наиболее важных нежелательных явлений в каждой экспериментальной группе);
- обсуждение (пункты: 18 — интерпретация результатов и их научное значение, 19 — транслируемость данных, 20 — финансирование исследования).

Следует отметить, что по каждой контрольной теме Руководящих принципов ARRIVE даны разъяснения о том, какая информация должна быть представлена в соответствующем разделе. Так, например, в пункте 7 — экспериментальные процедуры рекомендовано описать подробную информацию о проводимых манипуляциях для каждой экспериментальной группы. Необходимо указать, какое вещество вводится, способ и место введения, использование анестезии и анальгезии, способ эвтаназии. Необходимо предоставлять данные о квалификации специалистов, проводящих манипуляции, об использованном оборудовании и материалах, включая информацию о поставщиках. Отдельно следует описать время проведения манипуляций, место проведения (клетка проживания, открытая площадка, установка для тестирования, конкретное помещение и т. д.), привести обоснование выбора способа введения тестируемых объектов и используемых доз, применяемых анестетиков и т. д.

В последней версии руководства ARRIVE guidelines 2.0 (2020) [29] были выделены 2 набора: «ARRIVE Essential 10», которые представляет собой «Минимальные требования» к описанию, и «Рекомендуемые требования», где описывают весь контекст исследования (de Sert P. N., 2020).

Руководящие принципы ARRIVE целесообразно использовать на этапе подготовки исследования (составление плана исследования), при проведении исследования и подготовке итогового отчета о НИР, а также при рецензировании статей или экспертизе отчетов для оценки полученных результатов. Эти же выводы были сделаны в работе И. В. Александрова и соавт. (2017).

В докладе было отмечено, что Руководящие принципы ARRIVE не являются обязательным документом и носят рекомендательный характер. Документ мно-

[29] https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410

гократно обсуждался научным сообществом и ежегодно пересматривается. Публикуются данные о случаях, в которых Руководящие принципы ARRIVE не могут быть использованы. По мнению М. А. Ковалевой, описанные руководящие принципы частично используются исследовательскими центрами, но ряд вопросов по прежнему решается по старинке, так, например, многие отечественные отчеты и статьи при описании дизайна исследования не содержат информации о научном обосновании объема выборки лабораторных животных для конкретного исследования, не в полной мере описываются предпосылки проведения исследования и выбор вида лабораторных животных, иногда — вопросы содержания животных в исследовании, а также детально не дается информация о ветеринарном сопровождении при выполнении манипуляций, вызывающих боль и дистресс. В ходе исследований на крупных животных не указываются процедуры лечения животных при выявлении симптомов, не связанных с действием препарата. Отдельно было отмечено отсутствие в статьях описания причин исключения отдельных наблюдений при представлении результатов исследования. Также обозначена необходимость разработки единого алгоритма выбора вида лабораторных животных для исследований, который будет учитывать вопросы трансляционности полученных данных в клиническую практику.

Идею о необходимости детального представления материалов и методов, а также результатов в отчете о НИР поддержала Ирина Николаевна Исакова-Сивак (ФГБНУ «ИЭМ») в своем докладе «Обоснование безвредности и эффективности гриппозных вакцин в доклинических исследованиях» [30]. Она рассказала не только о видах и особенностях гриппозных вакцин, подходах к их доклиническому изучению, но и поделилась опытом сотрудничества с испытательным центром, в котором были проведены исследования вакцины на хорьках. И. Н. Исакова-Сивак подчеркнула, что представленный испытательным центром отчет о НИР содержал полную информацию о результатах исследования. Дизайн исследования соответствовал всем мировым стандартам, что позволило опубликовать результаты исследований в престижных зарубежных журналах.

Отрицательные данные научных исследований

В ходе свободной дискуссии специалисты, участвующие в работе сессии, подняли вопрос публикации **данных «отрицательных исследований»**. Был представлен опыт зарубежных ученых. Приведен пример опубликованной статьи с отрицательными результатами, полученными в клиническом исследовании, целью которого являлось установление связи между применением витаминов беременными женщинами и частотой дефектов нервной трубки у новорожденных, несмотря на ранее опубликованные положительные данные, ученым не удалось выявить взаимосвязь (Angell M., 1989). В 2017 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) выпустила специальные рекомендации, в которых сообщалось, что около 50 % результатов клинических исследований не публикуется. Эксперты ВОЗ отметили, что в большинстве

[30] https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2021/07/isakova_sivak-i.n..pdf

случаев причиной отказа от публикации являлись отрицательные результаты. При этом не были опубликованы результаты тщательно спланированных исследований с надлежащим анализом результатов исследования (ICTRP Joint Statement, 2017).

Вопрос о том, какое количество данных доклинических исследований «пылятся на полке» остается открытым, такая статистика не ведется ни за границей, ни в России. Участники конференции GLP-PLANET II выразили надежду на то, что отечественные научные рецензируемые журналы будут лояльно относиться к рукописям, в которых описываются отрицательные результаты исследований, по мнению ученых, это позволит сотрудникам испытательных центров не повторять ошибок коллег и снизит количество лабораторных животных, используемых в исследовании. Такую инициативу поддержал главный редактор журнала «Лабораторные животные для научных исследований». По мнению профессора Валерия Геннадьевича Макарова, журнал обязан публиковать качественно проведенные исследования вне зависимости от полученного результата.

Вместо выводов

Эксперименты на животных остаются важнейшим этапом доклинических исследований. Качество и полнота представленных результатов доклинических исследований, детализация используемых методов, исчерпывающее описание тест-систем могут, с одной стороны, способствовать повышению воспроизводимости экспериментов, с другой — обеспечивать публикационную активность научного сообщества.

Требуются значительные усилия научного сообщества для повышения валидности доклинических исследований, поскольку они представляют собой фундамент, на котором строятся дальнейшие исследования эффективности лекарств и обеспечивается фармацевтическая безопасность страны.

Участники сессии предложили на следующей конференции GLP-PLANET III более подробно обсудить следующие вопросы:

- воспроизводимость научных исследований;
- подходы к валидации методов моделирования патологий для изучения специфической активности лекарственных препаратов;
- релевантность лабораторных животных, используемых для моделирования различных патологий;
- статистический анализ данных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Al-Shahi Salman R, Beller E., Kagan J., Hemminki E., Phillips R. S., Savulescu J., Macleod M., Wisely J., Chalmers I. Increasing value and reducing waste in biomedical research regulation and management // Lancet. — 2014. — Vol. 383. — P. 176–185.
2. Begley C. G., Ioannidis J. P. A. Reproducibility in Science Improving the Standard for Basic and Preclinical Research // Circulation Research. — 2015. — Vol. 116. — P. 116–126.

3. Brody S., Proctor T. C. Growth and development with special reference to domestic animals-XXIII. Relation between basal metabolism and mature body weight in different species of birds and mammals // Univ. Miss. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. — 1932. — Vol. 166. — P. 89–101.
4. Chalmers I., Bracken M. B., Djulbegovic B., Garattini S., Grant J., Gulmezoglu A. M., Howells D. W., Ioannidis J. P., Oliver S. How to increase value and reduce waste when research priorities are set // Lancet. — 2014. — Vol. 383. — P. 156–165.
5. Chan A. W., Song F., Vickers A., Jefferson T., Dickersin K., Gotzsche P. C., Krumholz H. M., Ghersi D., van der Worp H. B. Increasing value and reducing waste: addressing inaccessible research // Lancet. — 2014. — Vol. 383. — P. 257–266.
6. Ioannidis J. P., Greenland S., Hlatky M. A., Khoury M. J., Macleod M. R., Moher D., Schulz K. F., Tibshirani R. Increasing value and reducing waste in research design, conduct, and analysis // Lancet. — 2014. — Vol. 383. — P. 166–175.
7. Iwasakia K., Unob Y., Utohb M., Yamazakic H. Importance of cynomolgus monkeys in development of monoclonal antibody drugs // Drug Metabolism and Pharmacokinetics. — 2019. — Vol. 34 (1). — P. 55–63.
8. Heusner A. A. size and power in mammals // J. exp. Biol. — 1991. — Vol. 160. — P. 25–54.
9. Glasziou P., Altman D. G., Bossuyt P., Boutron I., Clarke M., Julious S., Michie S., Moher D., Wager E. Reducing waste from incomplete or unusable reports of biomedical research // Lancet. — 2014. — Vol. 383. — P. 267–276.
10. Kleiber M., Dougherty J. E. The influence of environmental temperature on the utilization of food energy in baby chicks // J. Gen. Physiol. — 1934. — Vol. 17. — P. 701–726.
11. Son Y.-W., Choi H.-N., Che J.-H., Kang B.-C., Yun J.-W. Advances in selecting appropriate non-rodent species for regulatory toxicology research: Policy, ethical, and experimental considerations // Regulatory Toxicology and Pharmacology. — 2020. — Vol. 116. — P. 1–14.
12. Rubner M. Ueber den Einfluss der Körpergrösse auf Stoff- und Kraftwechsel // Z. Biol. — 1883. — Vol. 19. — P. 535–562.
13. Акимова М. А., Акимов Д. Ю. Морские свинки в доклинических исследованиях, оптимальные характеристики тест-системы // Лабораторные животные для научных исследований. — 2021. — № 1. — С. 1–8. https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-08.
14. Александров И. В., Егорова Е. И., Васина Е. Ю., Новиков В. К., Матыко П. Г., Галагудза М. М. Экспериментальные исследования на животных в эпоху трансляционной медицины. Какими им быть? Трансляционная медицина. — 2017. — Т. 4 (2). — С. 52–70.
15. Войтенко Н. Г., Макарова М. Н., Зуева А. А. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 1: крысы // Лабораторные животные для научных исследований. — 2020а. — № 1. — С. 1–7. https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-01-06.
16. Войтенко Н. Г., Макарова М. Н. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических иссле-

дованиях. Сообщение 3: карликовые свиньи. Лабораторные животные для научных исследований. — 2020. — №. 3. — С. 1–9. https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-03-02.
17. Войтенко Н. Г., Макарова М. Н., Ковалева М. А. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 2: кролики // Лабораторные животные для научных исследований. — 2020 b. — № 2. — С. 1–8. https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-02-01.
18. ГОСТ 33044–2014 «ПРИНЦИПЫ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ. Principles of good laboratory practice». — URL: https://docs.cntd.ru/document/1200115791 (дата обращения 17.07.2021 г.).
19. ГОСТ Р53022–3–2008. Технологии лабораторные и клинические. Требования к качеству лабораторных исследований. Правила оценки клинической эффективности лабораторных тестов. — URL: https://docs.cntd.ru/document/1200072565 (дата обращения 17.07.2021 г.).
20. Кательникова А. Е., Крышень К. Л., Зуева А. А., Макарова М. Н. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным. Лабораторные животные для научных исследований. — 2019. — № 2. — С. 1–16. https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-02-09.
21. Луговик И. А., Макарова М. Н. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс. Лабораторные животные для научных исследований. — 2021. — № 1. — С. 1–9. https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-01.
22. Макарова М. Н., Шекунова Е. В., Рыбакова А. В., Макаров В. Г. Объем выборки лабораторных животных для экспериментальных исследований // Фармация. — 2018. — Т. 67 (2). — С. 3–8. https://doi.org/10.29296/25419218-2018-02-01.
23. Решении ЕАЭК № 89 от 03.11.2016 «Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств». — URL: https://docs.cntd.ru/document/456026116.
24. Рыбакова А. В., Макарова М. Н., Кухаренко А. Е., Вичаре А. С., Рюффер Ф. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. — 2018. — № 8 (4). — С. 207–217.
25. Сорокина А. В., Алексеева С. В., Еремина Н. В., Дурнев А. Д. Опыт проведения клинико-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 1: гематологические исследования) // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. — 2019 a. — Т. 9 (3). — С. 197–206.
26. Сорокина А. В., Алексеева С. В., Еремина Н. В., Дурнев А. Д. Опыт проведения клинико-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 2: биохимические и патоморфологические исследования) // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. — 2019 b. — Т. 9 (4). — С. 272–279.
27. Трофимец Е. И., Макарова М. Н., Кательникова А. Е., Крышень К. Л. Эндотрахеальный способ введения лекарственных средств лабораторным животным.