

ВНЕДРЕНИЕ МНОГОЦЕНТРОВОГО ДИЗАЙНА НА ДОКЛИНИЧЕСКОМ ЭТАПЕ ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ БАРЬЕРОВ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Муразов Я. Г., Ковалева М. А., Макарова М. Н., Макаров В. Г.

Акционерное общество «Научно-производственное объединение
«ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская область, Россия

Контактная информация:

Ковалева Мария Александровна,
АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,
ул. Заводская, д. 3, к. 245, г.п.
Кузьмолковский,
Всеволожский район, Ленинградская обл.,
Россия, 188663.
E-mail: kovaleva.ma@doclinika.ru

Статья поступила в редакцию 07.12.2022
и принята к печати 28.02.2023.

Резюме

Введение. Процесс трансляции результатов отдельных доклинических исследований (ДКИ) в клиническую практику сопровождается существенным количеством неудач и сопряжен со значительными временными и финансовыми затратами. Неудовлетворительный дизайн отдельных ДКИ и отчетность, представляемая после проведения экспериментов *in vivo* на одной испытательной площадке, не позволяют преодолеть трансляционные барьеры и повысить воспроизводимость получаемых результатов. Актуальным становится проведение многоцентровых доклинических исследований (мДКИ) для подтверждения эффективности лекарственных средств и повышения шансов успешной трансляции доклинических результатов в клиническую практику. **Цель.** Провести описательный анализ научной литературы, посвященной мДКИ, при изучении фармакологической активности новых лекарственных средств. **Материалы и методы.** Поиск публикаций выполняли в базах данных PubMed и Google Scholar. В обзор включали публикации, доступные для поиска на 16 октября 2022 года. **Результаты.** Показано, что одноцентровые исследования, как правило, не позволяют точно предсказать величину эффекта, а большие размеры выборки делают оценку величины эффекта еще менее точной. **Выводы.** Возможно, основной целью мДКИ должна быть не количественная оценка размера эффекта на нескольких испытательных площадках, как это позиционируется в зарубежной доклинической практике, важнее оценить направленность эффекта, включая его «устойчивость», а также выявить источники гетерогенности между исследованиями, проведенными в разных центрах (лабораториях).

Ключевые слова: выбор вида животных, многоцентровые доклинические исследования, объем выборки, программа доклинического исследования, статистический анализ, экспериментальные модели.

Для цитирования: Муразов Я.Г., Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Внедрение многоцентрового дизайна на доклиническом этапе для преодоления трансляционных барьеров в клинических исследованиях. Трансляционная медицина. 2023;10(1):52-63. DOI: 10.18705/2311-4495-2023-10-1-52-63.

INTRODUCTION OF MULTICENTER DESIGN IN THE NON-CLINICAL PHASE TO OVERCOME TRANSLATIONAL BARRIERS IN CLINICAL TRIALS

Iaroslav G. Murazov, Mariya A. Kovaleva, Marina N. Makarova,
Valery G. Makarov

Research and manufacturing company "Home of Pharmacy",
Leningrad oblast, Russia

Corresponding author:

Mariya A. Kovaleva,
Research and manufacturing company
"Home of Pharmacy",
Zavodskaya str., 3-245, Kuzmolovskiy t.s.,
Vsevolozhskiy district, Leningrad oblast,
Russia, 188663.
E-mail: kovaleva.ma@doclinika.ru

Received 07 December 2022; accepted
28 February 2023.

Abstract

Background. The translating of individual preclinical studies (PCTs) results into clinical practice is accompanied by a significant number of failures and is associated with significant time and financial costs. The unsatisfactory design of individual non-clinical studies and the reports submitted after having done in vivo experiments at one laboratories do not allow overcoming translational barriers and increasing the results reproducibility. To conduct multicenter non-clinical trials is relevant to confirm the effectiveness of medicines and increase the chances of successful translation of non-clinical results into clinical practice. **Objective.** To analyze the scientific literature devoted to multicenter non-clinical studies in the research of the pharmacological activity of new drugs. **Design and methods.** The research was done using PubMed and Google Scholar databases. The review included available publications as of October 16, 2022. **Results.** It was discovered that single-center studies did not allow predicting the magnitude of the effect accurately, and large sample sizes made the estimation of the magnitude of the effect even less precise. **Conclusions.** The main purpose of multicenter non-clinical studies rather should be assessing the direction of the effect, including its "stability", as well as to identify sources of heterogeneity between studies conducted in different laboratories (centers) than performing a quantitative assessment of the effect on several laboratories, as it tend to be in foreign non-clinical practice.

Key words: choice of animal species, experimental models, multicenter non-clinical studies, non-clinical study design, sample size, statistical analysis.

For citation: Murazov IaG, Kovaleva MA, Makarova MN, Makarov VG. Introduction of multicenter design in the non-clinical phase to overcome translational barriers in clinical trials. *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2023;10(1):52-63. (In Russ.). DOI: 10.18705/2311-4495-2023-10-1-52-63.

Список сокращений: ДИ — доверительный интервал, ДКИ — доклиническое исследование, КИ — клиническое исследование, мДКИ — многоцентровое доклиническое исследование.

Введение

Процесс трансляции результатов отдельных доклинических исследований (ДКИ) в клиническую

практику сопровождается существенным количеством неудач и сопряжен со значительными временными и финансовыми затратами [1, 2]. Одна из причин трансляционного кризиса не связана непосредственно с КИ (клинические исследования), а возникает именно на этапе доклинического изучения фармакологической активности новых лекарственных средств.

Одноцентровые ДКИ, проводимые в строго стандартизированных условиях, являются золотым стандартом оценки фармакологической активности и безопасности перспективных лекарственных кандидатов на животных. Трансляционные барьеры, возникающие при проведении ДКИ *in vivo* на одной испытательной площадке, обусловлены неудовлетворительным дизайном исследования и отчетностью, что не позволяет воспроизводить полученные результаты. При планировании исследования необходимо обосновать выбор вида, линии лабораторных животных, используемых для моделирования экспериментальной патологии [3], а также размер выборки [4]. Следует отметить низкую частоту публикаций отрицательных результатов, что также приводит к увеличению числа ошибок на доклиническом этапе разработки лекарственного препарата [5]. Отсутствие таких публикаций осложняет обобщенную оценку эффекта вмешательства с помощью систематического обзора и метаанализа [6].

Для повышения трансляционности данных «от исследования к пациенту» (*англ.* bench to bedside) предложены различные подходы по повышению качества ДКИ. Одним из таких подходов является проведение многоцентровых экспериментов в ходе реализации единой программы ДКИ, аналогичных тем, что выполняются при КИ. В этом случае несколько независимых лабораторий самостоятельно проводят эксперимент, используя заранее согласованный протокол (план) исследования. На этапах клинической и доклинической разработки лекарственного препарата многоцентровой дизайн позволяет адекватно оценить внутреннюю и внешнюю валидность исследования, воспроизводимость результатов эксперимента. Проведение мДКИ, по-видимому, способствует более эффективному использованию лабораторных животных и реализации принципов 3Rs (Replacement, Reduction, Refinement). В то же время следует учитывать, что испытательные центры располагают разной материально-технической базой. Отсутствует единый подход к обеспечению качества, подготовке плана (протокола) и представлению результатов исследований в итоговом отчете. Эти аспекты создают сложности для организации и проведения мДКИ, а также затрудняют оценку полученных экспериментальных результатов.

Цель работы — провести описательный анализ научной литературы, посвященной мДКИ, при изучении фармакологической активности новых лекарственных средств.

Методы

Представленный описательный обзор обобщает научные публикации о предпосылках к проведению, методологии, преимуществах и перспективах многоцентрового дизайна ДКИ. Поиск публикаций выполняли в базах данных PubMed и Google Scholar. В обзор включали публикации, доступные для поиска на 16 октября 2022 года.

Результаты и обсуждение

Пути повышения воспроизводимости результатов доклинической оценки фармакологической активности новых лекарственных средств

Программа ДКИ оригинального лекарственного препарата, как правило, включает в себя изучение фармакодинамики (первичной и вторичной), фармакокинетики, общих и специфических видов токсичности (Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 (ред. от 23.09.2022) «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения»). При этом объем программы ДКИ зависит от конкретных характеристик тестируемого объекта. Существует ряд руководств, в том числе по надлежащей лабораторной практике (Good Laboratory Practice, GLP), регулирующих проведение ДКИ с участием лабораторных животных. Некоторые из них получили международное признание: руководство Международного совета по гармонизации (The International Council for Harmonisation (ICH) of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use), руководства Организации экономического сотрудничества и развития (OECD, The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals) [7, 8].

В Евразийском экономическом союзе гармонизованы требования к проведению ДКИ безопасности в целях выполнения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов [9]. Следует отметить, что система GLP в основном регламентирует проведение ДКИ по изучению безопасности тестируемых объектов. Изучение первичной фармакодинамики является нерегулируемым видом исследований в Российской Федерации [9].

Вследствие поискового характера большинства ДКИ по изучению фармакологической активности тестируемых объектов, связанных с подтверждением научных гипотез, и разнообразия используемых методологических подходов отсутствует возможность рационального применения жестких критериев на всех этапах доклинического изучения

лекарственного средства. Основные принципы надлежащего проведения данного типа исследований изложены в руководстве по качественной практике базовых биомедицинских исследований (Quality Practices in Basic Biomedical Research, QPBR), предложенных Всемирной организацией здравоохранения [10]. В Российской Федерации принципы QPBR носят рекомендательный характер [9].

При разработке средств лекарственной терапии различных заболеваний редко существует общепринятый золотой стандарт экспериментальной модели, что делает необходимым тестирование кандидатов на нескольких моделях, которые предоставляют дополнительные, а иногда и избыточные данные, с точки зрения трансляции в клиническую практику.

Разработка или выбор подходящей экспериментальной модели *in vivo* представляет собой сложный процесс и определяется целями проводимого ДКИ. Следует различать поисковые (гипотезогенерирующие) исследования и исследования, посвященные подтверждению научной гипотезы. Поисковые исследования в основном направлены на формулирование гипотез, касающихся патофизиологии заболевания и возможности его фармакологической коррекции. Цель подтверждающих исследований — воспроизвести результаты поисковых экспериментов, четко оценив размер эффекта вмешательства на соответствующей экспериментальной модели. При планировании подтверждающих исследований *in vivo*, до начала эксперимента необходима подготовка детализированного протокола (плана) исследования, который обязательно должен включать план статистического анализа, а также подробное описание процедур, направленных на снижение риска возникновения систематических ошибок. Такой подход в последующем обеспечит надежность публикуемых систематических обзоров и метаанализов результатов ДКИ [11]. По мнению ряда авторов, для доклинических фармакологических и биомедицинских исследований назрела необходимость создания отдельной надлежащей исследовательской практики — Good Research Practice [12].

Предпосылки к проведению мДКИ

Очевидным способом повышения трансляционности результатов исследований на животных было бы воспроизведение, а затем повторение ДКИ другими исследовательскими группами, прежде чем начинать КИ. Под воспроизведением подразумевается возможность повторить первоначальное исследование благодаря глубокому пониманию методов, протоколов и аналитических

методик, используемых первоначальной исследовательской группой. Повторение предполагает фактическое проведение исследования, для того чтобы оценить, остаются ли в силе результаты первоначального исследования. Этот подход также может включать адаптацию некоторых методов, протоколов и аналитических методик. Например, использование разных линий животных или изменение условий содержания животных (используемый корм, подстил и т. д.) [13]. Таким образом, воспроизводимость является необходимым условием для повторения экспериментов, которые повысят убедительность выводов благодаря более обширной доказательной базе, получаемой в ходе мДКИ. Показано, что из биомедицинских экспериментов (в основном при изучении биологии рака) только 10–25 % могут быть успешно воспроизведены [14].

Таким образом, предположение о том, что результаты эксперимента одного исследовательского центра можно сравнительно легко воспроизвести на другой испытательной площадке, опираясь лишь на публикации и используя те же материалы, методы и условия эксперимента, не состоятельно. Для повышения качества и прозрачности публикуемых результатов исследований *in vivo* предложен ряд рекомендаций. Проверочный лист ARRIVE (Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) призван побудить авторов предоставлять подробную информацию о дизайне исследования, методах, протоколах, материалах, экспериментальной модели, сборе и обработке данных, используемом программном обеспечении [15]. Чек-лист ARRIVE рекомендовано включать в каждую исследовательскую статью, где представлены эксперименты с участием животных.

Перспективы перехода от одноцентрового к многоцентровому дизайну ДКИ при оценке эффективности новых лекарственных средств

В отличие от большинства одноцентровых ДКИ с поисковым дизайном, мДКИ следует рассматривать как подтверждающие исследования [16]. Многоцентровой дизайн ДКИ был предложен в качестве подхода для повышения воспроизводимости, генерализуемости и транслируемости экспериментальных результатов для последующих КИ (рис. 1).

Проведение мДКИ является сравнительно новым подходом в исследованиях *in vivo*. Сегодня создан ряд международных консорциумов по проведению мДКИ, например, Multi-PART (Multicentre Preclinical Animal Research Team), сеть CIBER-CLAP (CIBERCV Cardioprotection Large Animal Platform), Canadian Critical Care Translational

Biology Group (CCSTBG). В настоящее время опубликованы результаты относительно небольшого количества мДКИ. Интерес к таким исследованиям наблюдается в области доклинического изучения средств терапии жизнеугрожающих и критических состояний: инфаркта миокарда, инсульта, травм головного мозга, сахарного диабета, в случае реанимационных мероприятий при остановке сердца, при использовании кардиопротекторов (табл. 1). Многоцентровые ДКИ проводятся для повышения достоверности статистических результатов магнитно-резонансной оценки путем объединения данных о животных из нескольких исследовательских центров [20], а также для стандартизации позитронно-эмиссионных исследований у животных [21].

Многие из исследований (табл. 1) вошли в систематический обзор, проведенный V. T. Hunniford и коллегами (2019 г.). Авторы разделили все 12 мДКИ на шесть клинических областей: черепно-мозговая травма (5 исследований), инфаркт миокарда (2 исследования), инсульт (2 исследования), сахарный диабет (1 исследование), травма (1 исследование) и последствия стимулирующего воздействия (1 исследование) [34]. В четырех исследованиях (33 %) сообщалось, что лечение показало статистически значимые положительные результаты; в шести исследованиях сообщалось, что лечение показало незначительные или нулевые результаты; в двух исследованиях сообщалось, что результаты были смешанными (положительными и нулевыми) для разных моделей экспериментальной патологии или показателей исхода. Авторы систематического обзора показали, что существует явное несоответствие результатов между предыдущими одноцентровыми исследова-

ниями и последующими мДКИ. В четырех исследованиях сообщалось, что их результаты подтвердили предыдущие выводы одноцентровых ДКИ, в шести не было обнаружено никакого эффекта, а в двух были обнаружены смешанные эффекты. По мнению авторов, возможным объяснением того, почему половина мДКИ сообщила о нулевых результатах, в то время как небольшие первичные исследования, проведенные в отдельных центрах, сообщили о положительных результатах, является больший размер выборки, более строгий методологический подход и контроль качества этих многоцентровых исследований. Аналогичная тенденция была отмечена в КИ со снижением эффекта вмешательства по мере перехода от одноцентровых исследований к многоцентровым [35]. Авторы систематического обзора обращают внимание на один из главных спорных вопросов ДКИ: отсутствие воспроизводимости и плохая генерализуемость результатов, полученных в одной лаборатории. Основываясь на результатах и выводах систематического обзора, авторы отмечают, что в одиннадцати из двенадцати исследований были сделаны четкие рекомендации или предложения для последующих исследований и разработок. Это наблюдение подтверждает обоснованность использования многоцентрового дизайна в ДКИ. Переход от традиционных одноцентровых исследований к более методологически строгим многоцентровым может в итоге уменьшить трансляционные неудачи, временные и финансовые потери.

В исследовании B. Voelkl и соавторов (2018 г.) было применено математическое моделирование для сравнения точности оценок размера эффекта между одноцентровыми и многоцентровыми исследованиями (рис. 2). В анализ включили

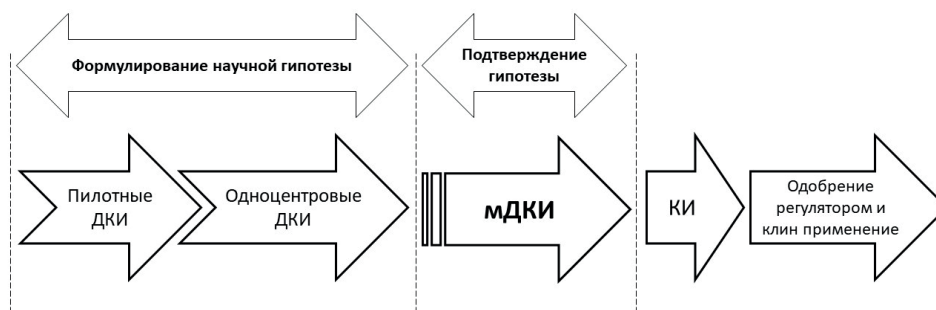


Рис. 1. мДКИ как связующее звено в трансляционных исследованиях (по Clovera G. и др. [1], с изменениями)

Figure 1. Multicenter non-clinical studies as a link element in translational research (according to Lovera G. and co-author [1], with amendments)

Таблица 1. Характеристика мДКИ, опубликованных в литературе за период с 1985 по 2022 гг.

Table 1. Characteristics of multicenter non-clinical studies found in literature from 1985 to 2022

Модель патологии	Вмешательство	Конечная точка	Вид	Полученные результаты	Источник
Инфаркт миокарда	Верапамил и ибупрофен	Размер зоны инфаркта	Собаки	Нет эффекта	Reimer KA, et al (1985) [22]
Изучение поведенческих тестов, влияния кокаина на локомоторную активность и предпочтений к этанолу у 8 линий мышей			Мыши	Смешанные	Crabbe JC, et al. (1999) [23]
Травматическое повреждение/геморрагический шок	Леофилизированная плазма	Остаточная активность факторов свертываемости крови	Свиньи	Положительные	Spoerke N, et al. (2009) [24]
Инфаркт миокарда	Кардиопротекция	Размер зоны инфаркта	Мыши, кролики, свиньи	Положительные	Jones SP, et al. (2015) [19]
Инсульт	антиCD49d антитело	Размер зоны инфаркта	Мыши	Смешанные (зависели от модели): нет эффекта, положительные	Llovera G, et al. (2015) [18]
Инсульт	Антагонист рецептора интерлейкина-1	Размер зоны инфаркта	Мыши	Положительные	Maysami S, et al. (2015) [25]
Травматическое повреждение головного мозга	Эритропоэтин	Оценка когнитивных функций, биомаркеры сыворотки, двигательная активность, неврологические симптомы	Крысы	Нет эффекта	Bramlett HM, et al. (2016) [26]
Травматическое повреждение головного мозга	Леветирацетам	Оценка когнитивных функций, биомаркеры сыворотки, двигательная активность, неврологические симптомы	Крысы	Положительные	Browning M, et al. (2016) [27]
Травматическое повреждение головного мозга	Циклоспорин	Оценка когнитивных функций, биомаркеры сыворотки, двигательная активность, неврологические симптомы	Крысы	Нет эффекта	Dixon CE, et al. (2016) [28]
Сахарный диабет	Комбинация анти-CD3 и интерлейкина-1	Уровень глюкозы	Мыши	Нет эффекта	Gill RG, et al. (2016) [29]
Травматическое повреждение головного мозга	Симвастатин	Оценка когнитивных функций, биомаркеры сыворотки, двигательная активность, неврологические симптомы	Крысы	Нет эффекта	Mountney A, et al. (2016) [30]
Травматическое повреждение головного мозга	Никотинамид	Оценка когнитивных функций, биомаркеры сыворотки, двигательная активность, неврологические симптомы	Крысы	Нет эффекта	Shear DA, et al. (2016) [31]
Волчаночный нефрит	Ингибитор JAK1/2 барицитиниб	Соотношение белок/креатинин в моче	Мыши	Нет эффекта	Lei Y, et al. (2021) [32]
Сердечно-легочная реанимация	Эпинефрин при различных путях введения	Коронарное перфузионное давление	Свиньи	Нет эффекта	Lin S, et al. (2022) [33]

440 ДКИ, в которых оценивалась эффективность 13 различных вмешательств у животных с экспериментальными моделями инсульта, инфаркта миокарда и рака молочной железы.

Авторы показали, что одноцентровые исследования, как правило, не позволяли точно предсказать величину эффекта, а большие размеры выборки делали оценку величины эффекта еще менее точной. Напротив, многоцентровой дизайн, включавший от 2 до 4 лабораторий, увеличивал вероятность охвата на 42 % (вероятность, с которой 95 % ДИ оценки размера эффекта включает истинный размер эффекта) без необходимости увеличения объема выборки (рис. 3). Авторы пришли к выводу, что чрезмерная стандартизация является источником низкой воспроизводимости, поскольку

она игнорирует биологически значимые вариации. При этом мДКИ, а также другие способы создания более разнородных выборок для исследования обеспечивают повышение воспроизводимости результатов исследований, что имеет решающее значение для предотвращения необоснованного использования животных и ресурсов [36, 37].

Отличия многоцентровых ДКИ от метаанализа одноцентровых ДКИ

Метаанализ в здравоохранении стал активно применяться в течение последних двух десятилетий в связи с необходимостью критической оценки результатов КИ [38]. Между тем, идея обобщенной оценки результатов ДКИ сравнительно новая. Процедура систематического обзора и статисти-

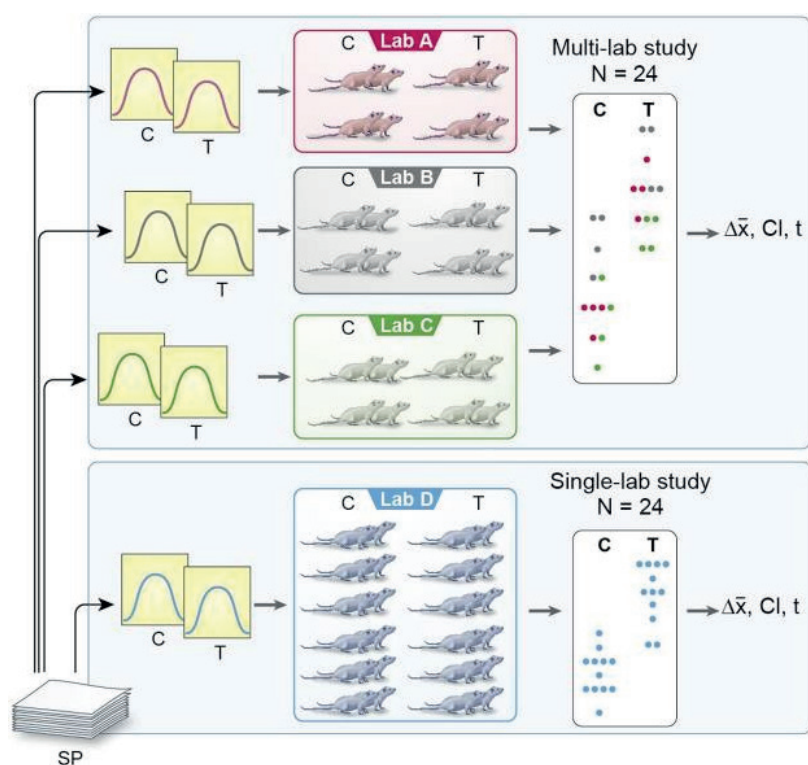


Рис. 2. Схема выборки для моделирования одноцентровых и многоцентровых исследований

Для одноцентрового исследования из общего числа исследований (SP) случайным образом выбиралось одно исходное исследование, а значения ответов на лечение для контрольной (C) и экспериментальной групп (T) генерировались путем выборки из нормального распределения с параметрами, указанными в исходном исследовании. Для многоцентрового исследования выбирали несколько оригинальных исследований, а значения ответов на лечение выбирались пропорционально из соответствующих распределений. C — контрольная группа; SP — пул исследований; T — экспериментальная группа.

Figure 2. Sampling scheme for modeling single-center and multicenter studies

For a single-center study, one initial study was randomly selected from the total number of studies (SP), and the values of treatment responses for the control (C) and experimental groups (T) were generated by sampling from a normal distribution with the parameters specified in the initial study. Several original studies were selected for the multicenter study, and the values of responses to treatment were selected proportionally from the corresponding distributions. C — control group; SP — research pool; T — experimental group.

ческий синтез доклинических данных (иногда абсолютно противоположных) отдельных научных исследований с помощью метаанализа становятся все более актуальными [39].

В отличие от мДКИ, метаанализы одноцентровых ДКИ имеют фундаментальный недостаток: они зависят от *post hoc* анализа результатов, полученных из ДКИ без заранее определенной стратегии анализа этих результатов. Таким образом, в ДКИ, которые включаются в метаанализ, как правило, отсутствует гармонизированный протокол, что ограничивает возможность сравнивать выборки и результаты исследований. Учитывая, что метаанализы ДКИ не включают выборку, получен-

ную проспективно из одной совокупности животных, а создают свою обобщенную выборку животных с использованием статистической процедуры, эта процедура должна быть четко определена. Как правило, для метаанализа используют опубликованные результаты проведенных исследований. В отличие от КИ, где каждый центр набирает определенное количество пациентов в один протокол, в мДКИ каждое исследование в отдельном испытательном центре (лаборатории) является самостоятельным завершённым исследованием. Поэтому протокол (план) исследования и гармонизация всех процедур оценок эффекта при многоцентровом дизайне должны быть определены *a priori*.

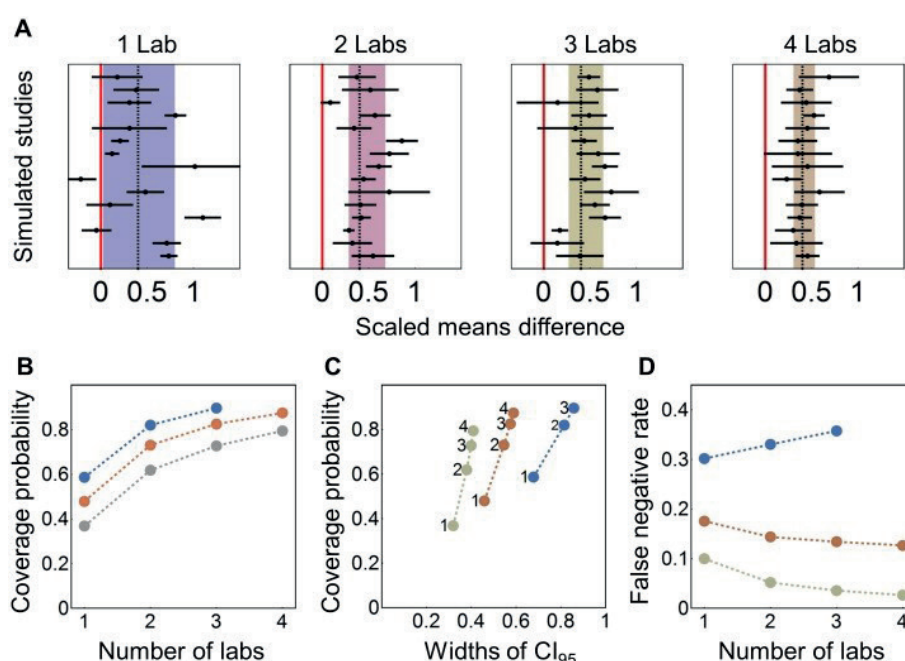


Рис. 3. Результаты повторной выборки из ДКИ по изучению гипотермии на моделях инсульта у грызунов

А — блогограмма для 15 случайно выбранных смоделированных исследований для сценария с 1, 2, 3 и 4 лабораториями и $N = 24$ (по 12 животных в опытной и контрольной группах); пунктирная линия: предполагаемый истинный эффект; заштрихованная область: 95 % ДИ для оценки размера эффекта на основе выборочных исследований. Красная линия — нулевой эффект (величина эффекта равна 0). В — вероятность охвата в зависимости от количества участвующих лабораторий для $N = 12$ (синий), $N = 24$ (оранжевый) и $N = 48$ (серый). С — вероятность охвата, построенная в зависимости от средней величины 95 % ДИ. D — доля ложноотрицательных результатов в зависимости от количества лабораторий (по Voelkl B. и др. [36], с изменениями).

Figure 3. Results of repeated sampling from non-clinical study (preclinical studies) to study hypothermia in rodent stroke models

A is a blobsgram for 15 randomly selected simulated studies for a scenario with 1, 2, 3 and 4 laboratories and $N = 24$ (12 animals each in the experimental and control groups); dotted line: supposed true effect; shaded area: 95 % CI (Confidence interval) to estimate the effect size based on sample studies. The red line is zero effect (the effect value is 0). B is the probability of coverage depending on the number of participating laboratories for $N = 12$ (blue), $N = 24$ (orange) and $N = 48$ (gray). C is the probability of coverage, plotted depending on the average value of 95 % CI. D is the proportion of false negative results according to the number of laboratories (according to Voelkl B. and a co-author [36], with amendments).

Открытым остается вопрос о подходах к статистической оценке результатов мДКИ. Стоит ли объединять результаты из всех участвующих испытательных центров (как это делается в КИ) с последующей статистической оценкой полученных данных или применить метааналитический подход. Несмотря на значительный интерес к метаанализу ДКИ, его ценность в экспериментальных исследованиях относительно низка, что обусловлено существенной предвзятостью публикаций и разным качеством одноцентровых исследований [1].

Требования к проведению мДКИ

Как было отмечено выше, мДКИ позволяют решить ряд проблем, которые обычно возникают при проведении ДКИ в одном испытательном центре. К ним можно отнести низкую валидность эксперимента, необоснованный размер выборки, спорную значимость получаемых результатов для оценки соотношения «польза/риск» [17, 33, 40]. Кроме того, в мДКИ используется несколько ключевых подходов, характерных для рандомизированных КИ:

- экспериментальные протоколы должны быть согласованы между участвующими исследовательскими центрами и максимально детализированы;
- протокол исследования и стратегия статистического анализа результатов должны быть установлены *a priori*;
- расчет размера выборки *a priori*;
- заслепленный дизайн;
- рандомизация;
- сбор данных в нескольких центрах или лабораториях;
- анализ данных независимым исследовательским центром;
- строгая отчетность по результатам.

Этические аспекты проведения многоцентровых ДКИ

Поскольку истинные размеры эффектов в ДКИ часто невелики и связаны со значительными различиями размера выборки, для получения надежных результатов целесообразно увеличить количество экспериментальных единиц. Согласно принципам 3Rs при проведении ДКИ с участием животных необходимо использовать минимально возможный размер выборки. L. U. Sneddon и соавторы (2017 г.) рекомендуют сосредоточиться не на расчете размера выборки при анализе мощности критерия и статистических выводах на основании достигнутого уровня значимости (p), а на оценке размера эффекта и его ДИ, как на более подходящих величинах для интерпретации полученных результатов [41].

В настоящее время пока нет единого мнения о том, как сбалансировать этические принципы и статистические подходы при повторении экспериментов *in vivo*. Следует отметить, что стандартные подходы, в которых расчеты мощности основаны на точечной оценке эффекта первоначального исследования, часто дают слишком малый размер выборки. Например, в более чем 2 000 отдельных экспериментов с участием около 35 000 грызунов, в которых были изучены различные лекарственные средства на моделях ишемического инсульта, средний размер группы составлял 8 животных (диапазон: 1–54). Как оказалось, большинство отдельных лабораторий не в состоянии проводить эксперименты с требуемым размером выборки ≥ 40 животных в группе. В то же время достижение такого размера группы возможно в рамках консорциума центров, участвующих в мДКИ [1].

Из-за этических и ресурсных ограничений повторения ДКИ редко включают большие размеры выборки, что может быть одной из причин, по которой многоцентровой дизайн еще не нашел широкого применения при планировании ДКИ.

Заключение

Трансляция результатов доклинической оценки фармакологической активности тестируемых объектов в клиническую практику затруднена, что сопровождается существенным количеством неудач при проведении последующих КИ. Вполне вероятно, что одноцентровые ДКИ являются неоднородными и, следовательно, должны включать больший размер выборки для подтверждения научной гипотезы. В обозримом будущем значение мДКИ и их возможное превосходство перед одноцентровым дизайном в прогнозировании эффективности лекарственных средств будет доказано при успешной трансляции получаемых доклинических результатов в соответствующие КИ. Следует отметить, что основной целью мДКИ, по-видимому, должна быть не количественная оценка размера эффекта на нескольких испытательных площадках, как это позиционируется в зарубежной доклинической практике, важнее оценить направленность эффекта, включая его «устойчивость», а также выявить возможные источники гетерогенности между исследованиями, проведенными в разных центрах (лабораториях).

Регулярный независимый мониторинг данных в ходе мДКИ позволит немедленно прекратить доклиническую оценку вмешательств или принять своевременные корректирующие меры, если будут получены нулевые или отрицательные данные. Такой подход обеспечит ответственное про-

ведение экспериментов с участием лабораторных животных. Расходы, связанные с организацией и проведением мДКИ, следует рассматривать как оправданные по сравнению с теми ресурсами, которые были бы затрачены на проведение КИ, результаты которых впоследствии оказались бы неудовлетворительными.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Llovera G, Liesz A. The next step in translational research: lessons learned from the first preclinical randomized controlled trial. *J Neurochem*. 2016; 139 Suppl 2:271–279. DOI: 10.1111/jnc.13516.
2. Pound P, Ritskes-Hoitinga M. Is it possible to overcome issues of external validity in preclinical animal research? Why most animal models are bound to fail. *J Transl Med*. 2018; 16(1):304. DOI: 10.1186/s12967-018-1678-1.
3. Mullane K, Williams M. Preclinical Models of Alzheimer's Disease: Relevance and Translational Validity. *Curr Protoc Pharmacol*. 2019; 84(1):e57. DOI: 10.1002/cpph.57.
4. Bonapersona V, Hoijtink H, RELACS, et al. RePAIR: a power solution to animal experimentation. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/864652v1> (December 2019)
5. Turner PV, Barbee RW. Responsible Science and Research Animal Use. *ILAR J*. 2019; 60(1):1–4. DOI: 10.1093/ilar/ilz020.
6. Sena ES, Currie GL, McCann SK, et al. Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: why perform them and how to appraise them critically. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014; 34(5):737–742. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.28.
7. McGonigle P, Williams M. Preclinical Pharmacology and Toxicology - Contributions to the Translational Interface. In: *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier: 2017. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.05242-9.
8. Silva Lima B, Videira MA. Toxicology and Biodistribution: The Clinical Value of Animal Biodistribution Studies. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018; 8:183–197. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.01.003.
9. Engalycheva GN, Syubaev RD, Goryachev DV. Quality Standards of Preclinical Pharmacological Studies. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2019; 9(4):248–255. In Russian [Енгальчева Г.Н., Сяубаев Р.Д., Горячев Д.В. Стандарты качества доклинических фармакологических исследований. Вестник Научного центра экспертизы средств
10. медицинского применения. 2019; 9(4):248–255]. DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-4-248-255.
10. World Health Organization. UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Quality practices in basic biomedical research (QPBR) training manual. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44293> (2010)
11. Hooijmans CR, Int'Hout J, Ritskes-Hoitinga M, et al. Meta-analyses of animal studies: an introduction of a valuable instrument to further improve healthcare. *ILAR J*. 2014; 55(3):418–426. DOI: 10.1093/ilar/ilu042.
12. Huang W, Percie du Sert N, Vollert J, et al. General Principles of Preclinical Study Design. In: *Handb Exp Pharmacol*. 2020; 257:55–69. DOI: 10.1007/164_2019_277.
13. Drude NI, Martinez Gamboa L, Danziger M, et al. Improving preclinical studies through replications. *Elife*. 2021; 10:e62101. DOI: 10.7554/eLife.62101.
14. Design preclinical studies for reproducibility. *Nat Biomed Eng*. 2018; 2(11):789–790. DOI: 10.1038/s41551-018-0322-y.
15. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2020; 18(7):e3000410. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000410.
16. Kimmelman J, Mogil JS, Dirnagl U. Distinguishing between exploratory and confirmatory preclinical research will improve translation. *PLoS Biol*. 2014; 12(5):e1001863. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001863.
17. Balduini W, Carloni S, Cimino M. Preclinical randomized controlled multicenter trials (pRCT) in stroke research: a new and valid approach to improve translation? *Ann Transl Med*. 2016; 4(24):549. DOI: 10.21037/atm.2016.12.41.
18. Llovera G, Hofmann K, Roth S, et al. Results of a preclinical randomized controlled multicenter trial (pRCT): Anti-CD49d treatment for acute brain ischemia. *Sci Transl Med*. 2015; 7(299):299ra121. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa9853.
19. Jones SP, Tang XL, Guo Y, et al. The NHLBI-sponsored Consortium for preclinical assessment of cARDioprotective therapies (CAESAR): a new paradigm for rigorous, accurate, and reproducible evaluation of putative infarct-sparing interventions in mice, rabbits, and pigs. *Circ Res*. 2015; 116(4):572–586. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305462.
20. Deruelle T, Kober F, Perles-Barbacaru A, et al. A Multicenter Preclinical MRI Study: Definition of Rat Brain Relaxometry Reference Maps. *Front Neuroinform*. 2020; 14:22. DOI: 10.3389/fninf.2020.00022.
21. Mannheim JG, Mamach M, Reder S, et al. Reproducibility and Comparability of Preclinical PET Imaging Data: A Multicenter Small-Animal PET Study. *J Nucl Med*. 2019; 60(10):1483–1491. DOI: 10.2967/jnumed.118.221994.

22. Reimer KA, Jennings RB, Cobb FR, et al. Animal models for protecting ischemic myocardium: results of the NHLBI Cooperative Study. Comparison of unconscious and conscious dog models. *Circ Res.* 1985; 56(5):651–665. DOI: 10.1161/01.res.56.5.651.
23. Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science.* 1999; 284(5420):1670–1672. DOI: 10.1126/science.284.5420.1670.
24. Spoerke N, Zink K, Cho SD, et al. Lyophilized plasma for resuscitation in a swine model of severe injury. *Arch Surg.* 2009; 144(9):829–834. DOI: 10.1001/archsurg.2009.154.
25. Maysami S, Wong R, Pradillo JM, et al. A cross-laboratory preclinical study on the effectiveness of interleukin-1 receptor antagonist in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016; 36(3):596–605. DOI: 10.1177/0271678X15606714.
26. Bramlett HM, Dietrich WD, Dixon CE, et al. Erythropoietin Treatment in Traumatic Brain Injury: Operation Brain Trauma Therapy. *J Neurotrauma.* 2015; 33(6):538–552. DOI: 10.1089/neu.2015.4116.
27. Browning M, Shear DA, Bramlett HM, et al. Levetiracetam Treatment in Traumatic Brain Injury: Operation Brain Trauma Therapy. *J Neurotrauma.* 2016; 33(6):581–594. DOI: 10.1089/neu.2015.4131.
28. Dixon CE, Bramlett HM, Dietrich WD, et al. Cyclosporine Treatment in Traumatic Brain Injury: Operation Brain Trauma Therapy. *J Neurotrauma.* 2016; 33(6):553–566. DOI: 10.1089/neu.2015.4122.
29. Gill RG, Pagni PP, Kupfer T, et al. A Preclinical Consortium Approach for Assessing the Efficacy of Combined Anti-CD3 Plus IL-1 Blockade in Reversing New-Onset Autoimmune Diabetes in NOD Mice. *Diabetes.* 2016; 65(5):1310–1316. DOI: 10.2337/db15-0492.
30. Mountney A, Bramlett HM, Dixon CE, et al. Simvastatin Treatment in Traumatic Brain Injury: Operation Brain Trauma Therapy. *J Neurotrauma.* 2016; 33(6):567–580. DOI: 10.1089/neu.2015.4130.
31. Shear DA, Dixon CE, Bramlett HM, et al. Nicotinamide Treatment in Traumatic Brain Injury: Operation Brain Trauma Therapy. *J Neurotrauma.* 2016; 33(6):523–537. DOI: 10.1089/neu.2015.4115.
32. Lei Y, Sehnert B, Voll RE, et al. A multicenter blinded preclinical randomized controlled trial on Jak1/2 inhibition in MRL/MpJ-Faslpr mice with proliferative lupus nephritis predicts low effect size. *Kidney Int.* 2021; 99(6):1331–1341. DOI: 10.1016/j.kint.2021.01.024.
33. Lin S, Ramadeen A, Sundermann ML, et al. Establishing a multicenter, preclinical consortium in resuscitation: A pilot experimental trial evaluating epinephrine in cardiac arrest. *Resuscitation.* 2022; 175:57–63. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2022.04.016.
34. Hunniford VT, Grudniewicz A, Fergusson DA, et al. Multicenter preclinical studies as an innovative method to enhance translation: a systematic review of published studies. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/591289v1> (March, 2019)
35. Dechartres A, Boutron I, Trinquart L, et al. Single-center trials show larger treatment effects than multicenter trials: evidence from a meta-epidemiologic study. *Ann Intern Med.* 2011; 155(1):39–51. DOI: 10.7326/0003-4819-155-1-201107050-00006.
36. Voelkl B, Vogt L, Sena ES, et al. Reproducibility of preclinical animal research improves with heterogeneity of study samples. *PLoS Biol.* 2018; 16(2):e2003693. DOI: 10.1371/journal.pbio.2003693.
37. Erdogan BR, Michel MC. (2019). Building Robustness into Translational Research. In: Bernalov, A, Michel, M, Steckler T, ed. *Good Research Practice in Non-Clinical Pharmacology and Biomedicine. Handbook of Experimental Pharmacology*, vol 257. Cham: Springer. DOI: 10.1007/164_2019_283.
38. Sauerland S, Seiler CM. Role of systematic reviews and meta-analysis in evidence-based medicine. *World J Surg.* 2005; 29(5):582–587. DOI: 10.1007/s00268-005-7917-7.
39. Murazov YaG, Stukov A.N., Zmitrichenko IuG, et al. The effect of the domestic antitumor compound chlonisol from the class of nitrosoalkylureas on the overall survival of laboratory rodents with intracranial tumors: a meta-analysis of preclinical studies. *Laboratory Animals for Science.* 2022; 26:44–51. In Russian [Муразов Я.Г., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г. и др. Влияние отечественного противоопухолевого соединения из класса нитрозоалкилмочевин хлонизола на общую выживаемость лабораторных грызунов с интракраниальными опухолями: метаанализ результатов доклинических исследований. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2022; 2: 44–51]. DOI: 10.29296/2618723X-2022-02-05.
40. Bath PM, Macleod MR, Green AR. Emulating multicentre clinical stroke trials: a new paradigm for studying novel interventions in experimental models of stroke. *Int J Stroke.* 2009; 4(6):471–479. DOI: 10.1111/j.1747-4949.2009.00386.x.
41. Sneddon LU, Halsey LG, Bury NR. Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology. *J Exp Biol.* 2017; 220(Pt 17):3007–3016. DOI: 10.1242/jeb.147058.

Информация об авторах:

Муразов Ярослав Геннадьевич, к.б.н., заместитель руководителя отдела специфической токсикологии и микробиологии, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»;

Ковалева Мария Александровна, к.б.н., руководитель научно-методической группы, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»;

Макарова Марина Николаевна, д.м.н., директор, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»;

Макаров Валерий Геннадьевич, д.м.н., профессор, научный руководитель, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

Author information:

Iaroslav G. Murazov, Ph.D., Deputy Head of the Department of Specific Toxicology and Microbiology, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”;

Mariya A. Kovaleva, Ph.D., Head of the scientific and methodological group, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”;

Marina N. Makarova, D.M.Sc., Director, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”;

Valery G. Makarov, D.M.Sc., Professor, Scientific Supervisor, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”.