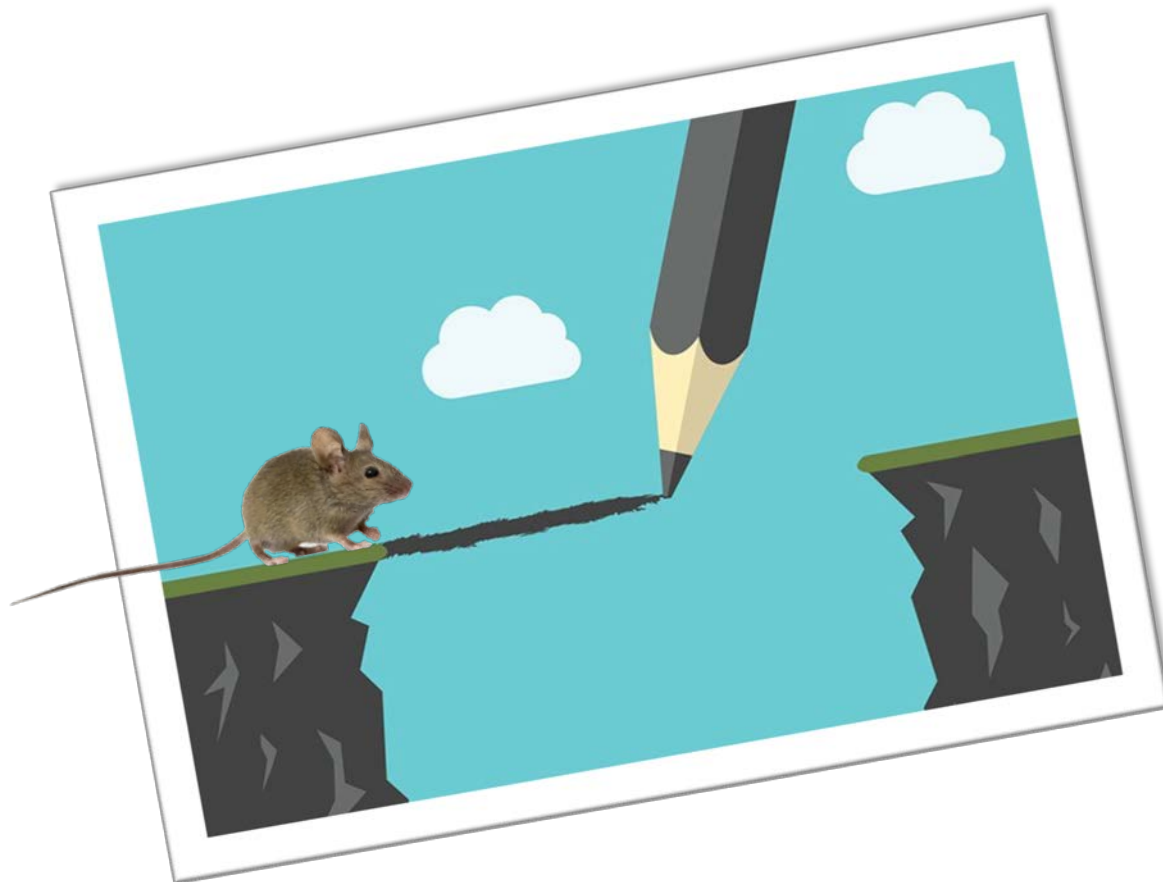


Галагудза М.М.

ARRIVE2.0 в России: добежим, добредем или доползем?

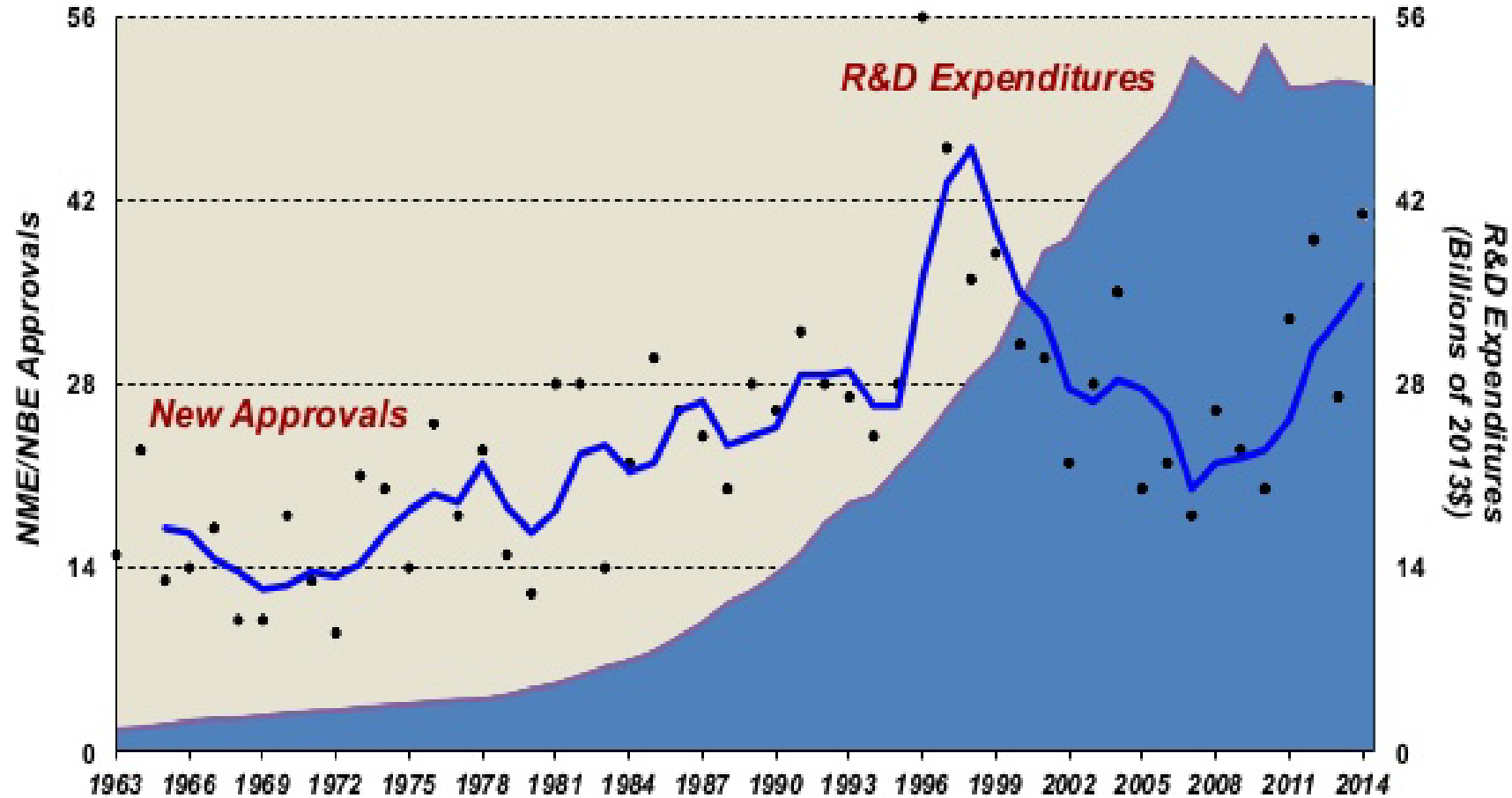


GLP Planet, 28 июня 2023 года

Проблемы с воспроизводимостью экспериментальных данных

- Отсутствие воспроизводимости результатов отмечается в 51-89% случаев (Freedman & Gibson, 2015)
- Исследователи Bayer Healthcare смогли воспроизвести только 20-25% из 67 преклинических исследований (Prinz et al., 2011)
- Исследователи Amgen воспроизвели только 6 из 53 исследований в области биологии рака во взаимодействии с авторами-исследователями (Begley & Ellis, 2012)

Увеличение затрат на биомедицинские разработки не сопровождается приростом числа одобренных для применения лекарств



* Trend line is 3-year moving average; R&D expenditure adjusted for inflation

Source: Tufts CSDD, 2015; R&D expenditures from PhRMA

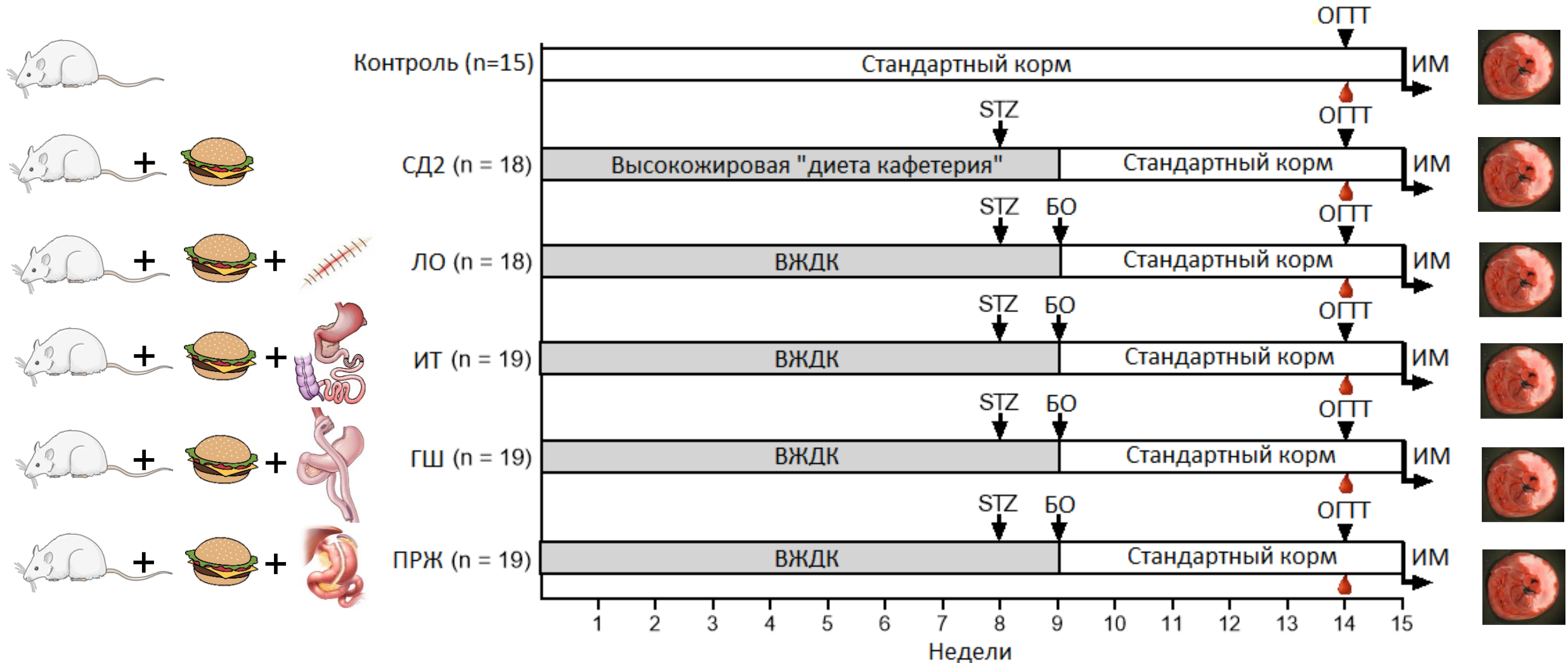
Рекомендации ARRIVE 2.0: информация, которую необходимо включить в публикацию (1)

Раздел	Контрольные вопросы
Дизайн исследования	<ul style="list-style-type: none">• Все ли экспериментальные и контрольные группы четко определены?• Четко ли идентифицирована экспериментальная единица (например, животное, клетка с животными)?
Размер групп	<ul style="list-style-type: none">• Указано ли точное количество экспериментальных единиц в каждой группе на момент начала исследования ($n = X$)?• Объясняется ли метод, с помощью которого был определен размер выборки?
Критерии включения и исключения	<ul style="list-style-type: none">• Указаны ли критерии, используемые для включения и исключения животных, экспериментальных единиц или точек данных?• Сообщается ли о каких-либо исключениях животных, экспериментальных единиц или точек данных, или есть заявление, указывающее на то, что исключений не было?
Рандомизация	<ul style="list-style-type: none">• Описан ли метод, с помощью которого экспериментальные единицы были распределены по контрольным и опытным группам?
Ослепление	<ul style="list-style-type: none">• Применено ли ослепление на каком-либо этапе эксперимента или анализа данных?

Рекомендации ARRIVE 2.0: информация, которую необходимо включить в публикацию (2)

Раздел	Контрольные вопросы
Итоговые показатели	<ul style="list-style-type: none">• Для всех представленных результатов эксперимента приведены ли подробные сведения о том, какой именно параметр был измерен? Первичная точка?
Методы статистической обработки	<ul style="list-style-type: none">• Детализирован ли статистический подход, используемый для анализа каждого результата?• Существует ли описание каких-либо методов, используемых для оценки соответствия данных статистическим допущениям?
Характеристики животных	<ul style="list-style-type: none">• Указаны ли все виды используемых животных?• Указан ли пол животных?• Указаны ли возраст, масса или стадия развития животных?
Экспериментальные процедуры	<ul style="list-style-type: none">• Указаны ли сроки и частота проведения процедур?• Представлена ли подробная информация о периодах адаптации?
Представление результатов	<ul style="list-style-type: none">• Предоставляются ли описательные статистические данные для каждой экспериментальной группы с указанием показателя вариабельности (например, среднее значение и СО, или медиана и квартили)?• Указан ли размер эффекта и доверительный интервал?

1. Дизайн исследования: графическая форма, «говорящие» названия групп, положительные и отрицательные контроли



1. Дизайн исследования : инициатива журнала PLoS ONE по повышению воспроизводимости данных: registered reports



1

На первом месте при оценке не результат, а качество планирования

2

Ранняя обратная связь и улучшение протокола; совместное создание наилучшего протокола

3

Увеличение вероятности получения воспроизводимых результатов

4

Публикация независимо от результата; ответственность разделена между авторами и редакцией

2. Размер групп: для предварительного определения N могут быть использованы 3 подхода

- Руководитель исследования представляет данные статистического расчета объема выборки, тем самым демонстрируя знание данного метода
- Ссылка на ранее проведенные исследования в том случае, если их дизайн и методология очень сходны с планируемым исследованием
- В случае, когда данные исследования не требуют статистической обработки (например, описания гистологии), количество животных может быть выведено из количества материала, который надо получить (например, гистологических препаратов)

2. Размер групп: расчет объема выборки с использованием онлайн калькуляторов

Например:

<https://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/n2.html>

Вносимые параметры:

- | | |
|---|----------------|
| • Доверительный интервал (или уровень значимости альфа; или частота ошибки I типа) | Чаще 5% (0,05) |
| • Статистическая мощность | 0,8 – 0,9 |
| • Ожидаемая разница (?) по сравнению с контролем в абсолютных единицах – на основе каких данных | X |
| • Стандартное отклонение в испытываемой группе (?)
- зависит от “чистоты” методики и качества ЖИВОТНЫХ | Y |

2. Размер групп : пилотное исследование

Определение 1

Пилотное исследование – небольшой эксперимент, направленный на сбор предварительной информации и проверку готовности к более объемному исследованию для улучшения качества и повышения его надежности

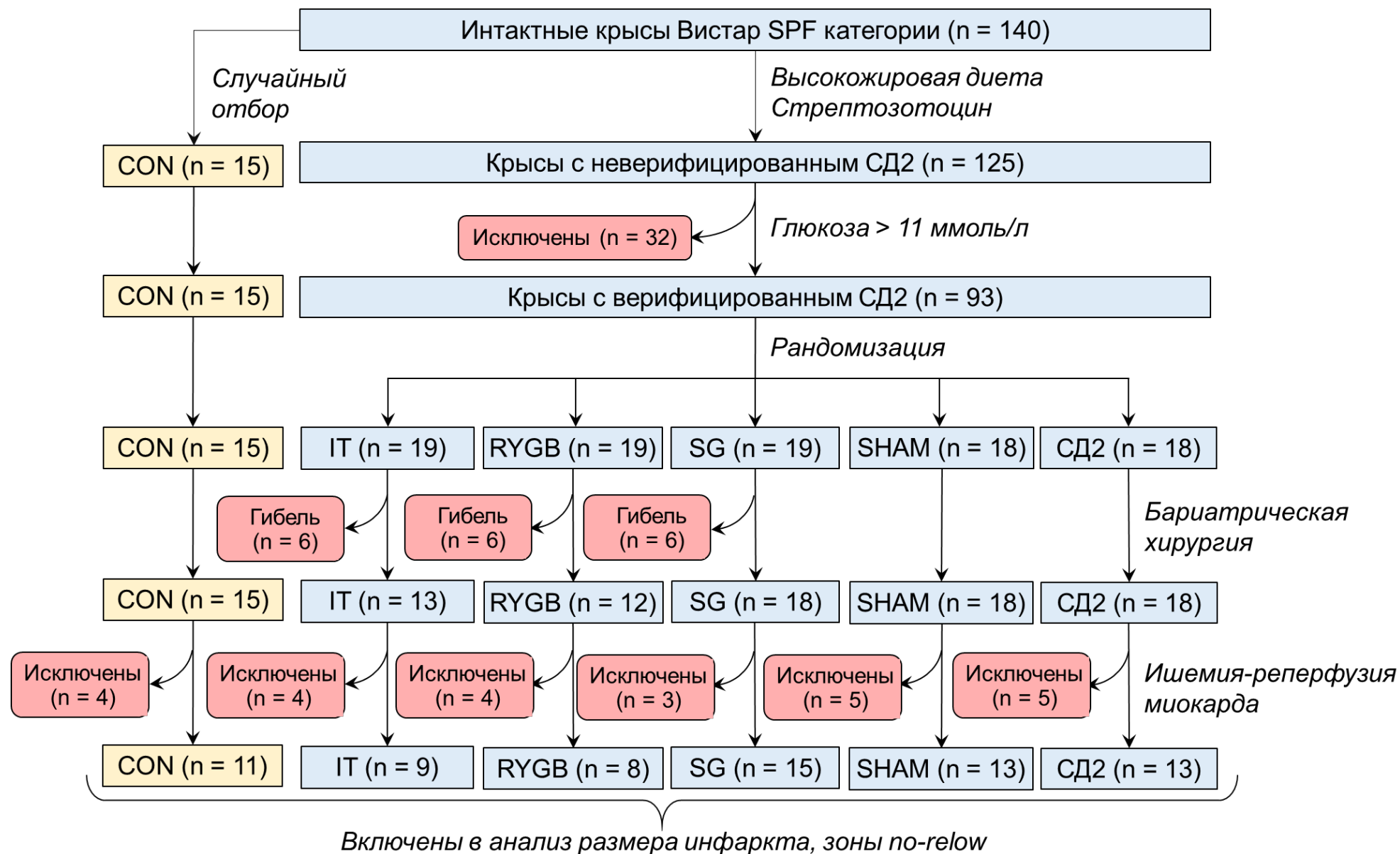
Определение 2

Пилотное исследование – «модель» полномасштабного экспериментального исследования в миниатюре с результатами, которые могут оказать влияние на дизайн основного исследования

2. Размер групп: цели и задачи пилотного исследования

- Используется небольшое количество животных (**обычно $n < 10$**) и одна-две группы
- **Цель 1** : убедиться, что методика работает, особенно если она новая
- **Цель 2** : получить данные о вариабельности ключевого параметра для последующего расчета объема выборки
- **Цель 3** : получить данные о выраженности эффекта тестируемого воздействия
- Не требует **полного** обоснования объема выборки
- **Не рекомендуется объединять** с результатами основного исследования, даже при хорошей воспроизводимости данных; следует обсуждать с биостатистиками

3. Включение и исключение: полная прослеживаемость



4. Рандомизация: важность и методы

- Применение рандомизации уменьшает ошибки отбора
- Наиболее часто используются генераторы случайных чисел
- Необходима регулярная проверка качества рандомизации
- Необходимо указывать метод рандомизации (простая, блоковая и т.п.)
- Необходима корректировка на искажающие факторы

5. Ослепление: важность и методы

- Отсутствие ослепления приводит к увеличению размера эффекта на 30-45%
- Идеальный вариант – кодирование, исключающее информацию о воздействии
- Подключение дополнительных исполнителей
- Ключевые этапы эксперимента для проведения ослепления:
 - при распределении на группы
 - при выполнении эксперимента
 - при оценке исходов
 - при анализе результатов
- Если ослепление невозможно, это должно быть отражено в тексте с указанием причины

5. Ослепление: пример ошибки детекции в результате отсутствия ослепления персонала



Задача персонала по уходу за животными: каждый день отмечать активность животных в баллах от 1 балла (неактивны) до 5 баллов (очень активны).

Результат ?

6. Итоговые показатели : понятия экспериментальной и гуманной конечной точки

Экспериментальная конечная точка – результат, предусмотренный протоколом исследования по завершении эксперимента, могущего сопровождаться развитием у животных различной степени боли и дистресса

Гуманная конечная точка – завершение эксперимента до момента достижения экспериментальной конечной точки, обычно в результате выполнения эвтаназии в связи с наступлением критического уровня боли и дистресса; решение принимается руководителем исследования и курирующим ветеринарным врачом

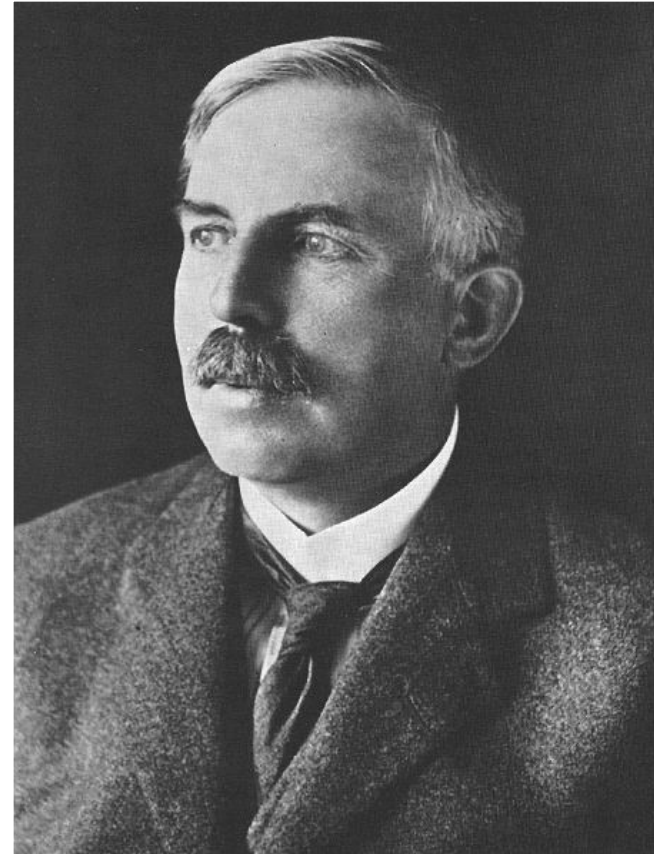
7. Статистическая обработка : наиболее частые нарушения и ложные представления при обработке данных

- «Подгонка» значения уровня значимости P (*P-hacking*):
 - удаление крайних значений
 - замена первичной конечной точки
 - избирательный анализ
 - «добор» значений
 - ... и многое другое
- Выдвижение гипотезы после получения результатов (*HARKing*)
- Чем меньше значение P , тем сильнее эффект
- Преувеличение оценки статистической значимости как главной цели
- Стандартная ошибка среднего позволяет оценивать вариабельность в группе
- Не следует указывать детали статистического анализа

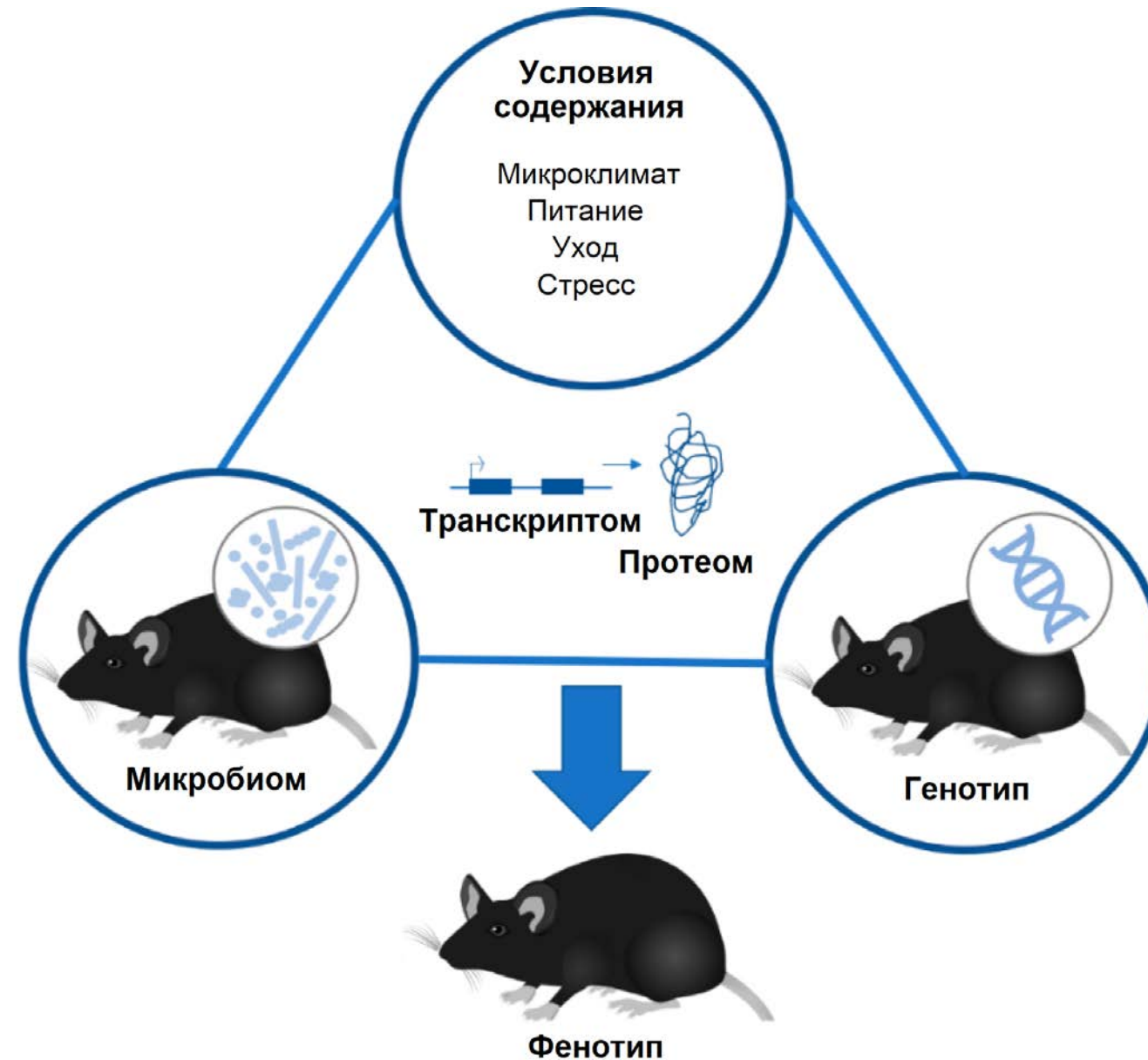
7. Статистическая обработка : недостаток современной парадигмы исследований, основанной на формулировке гипотез: *заранее известно, какой результат нужно (не нужно) получить*

«Если результаты Ваших экспериментов требуют статистической обработки, Вам следует провести более качественные эксперименты»

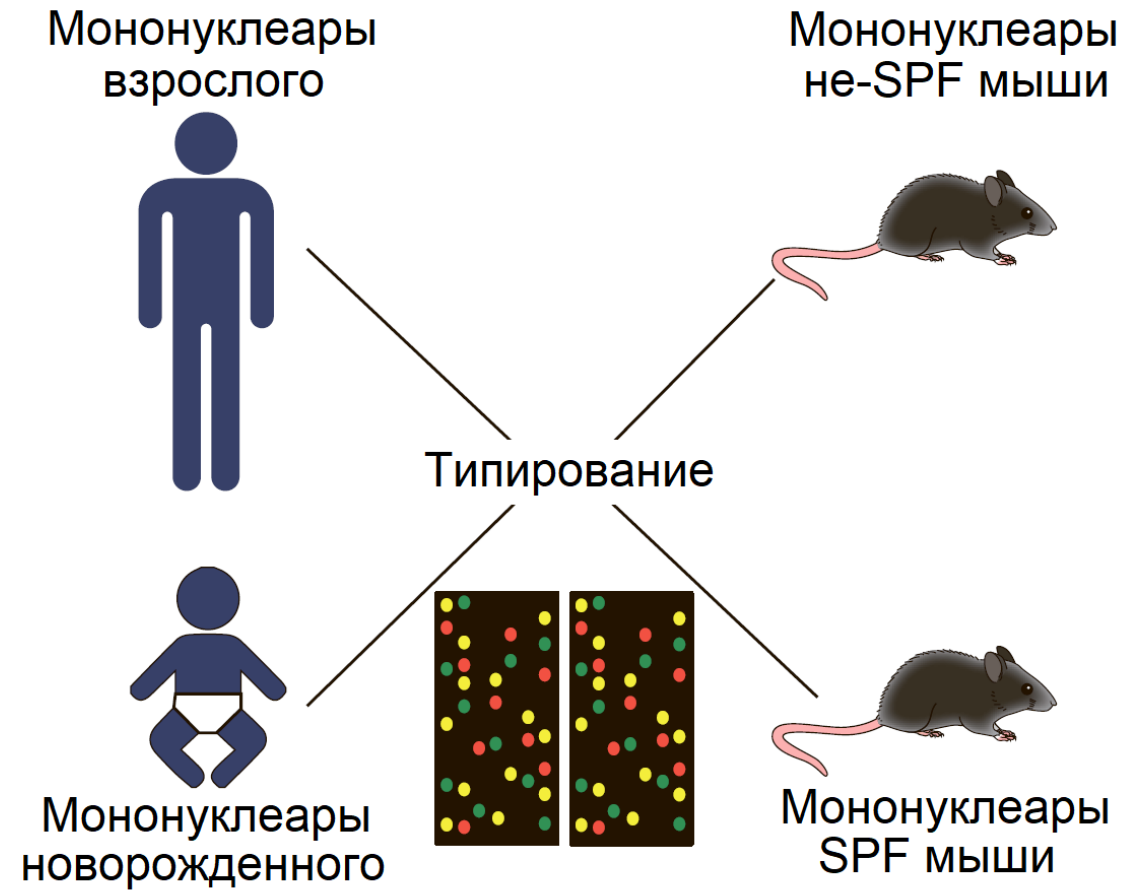
Э. Резерфорд (1871-1937)



8. Характеристики животных : основные компоненты качества



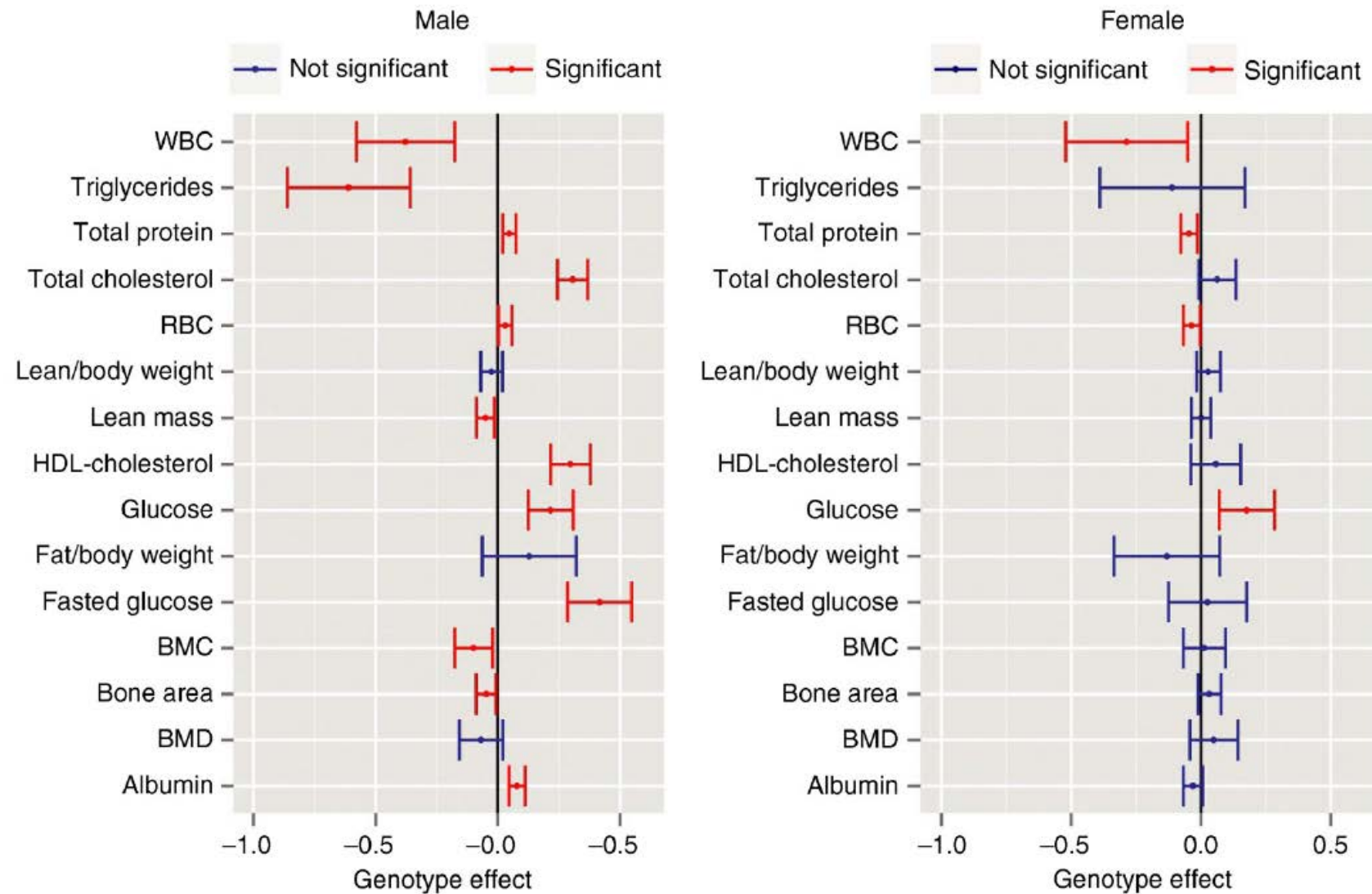
8. Характеристики животных : востребованность SPF животных



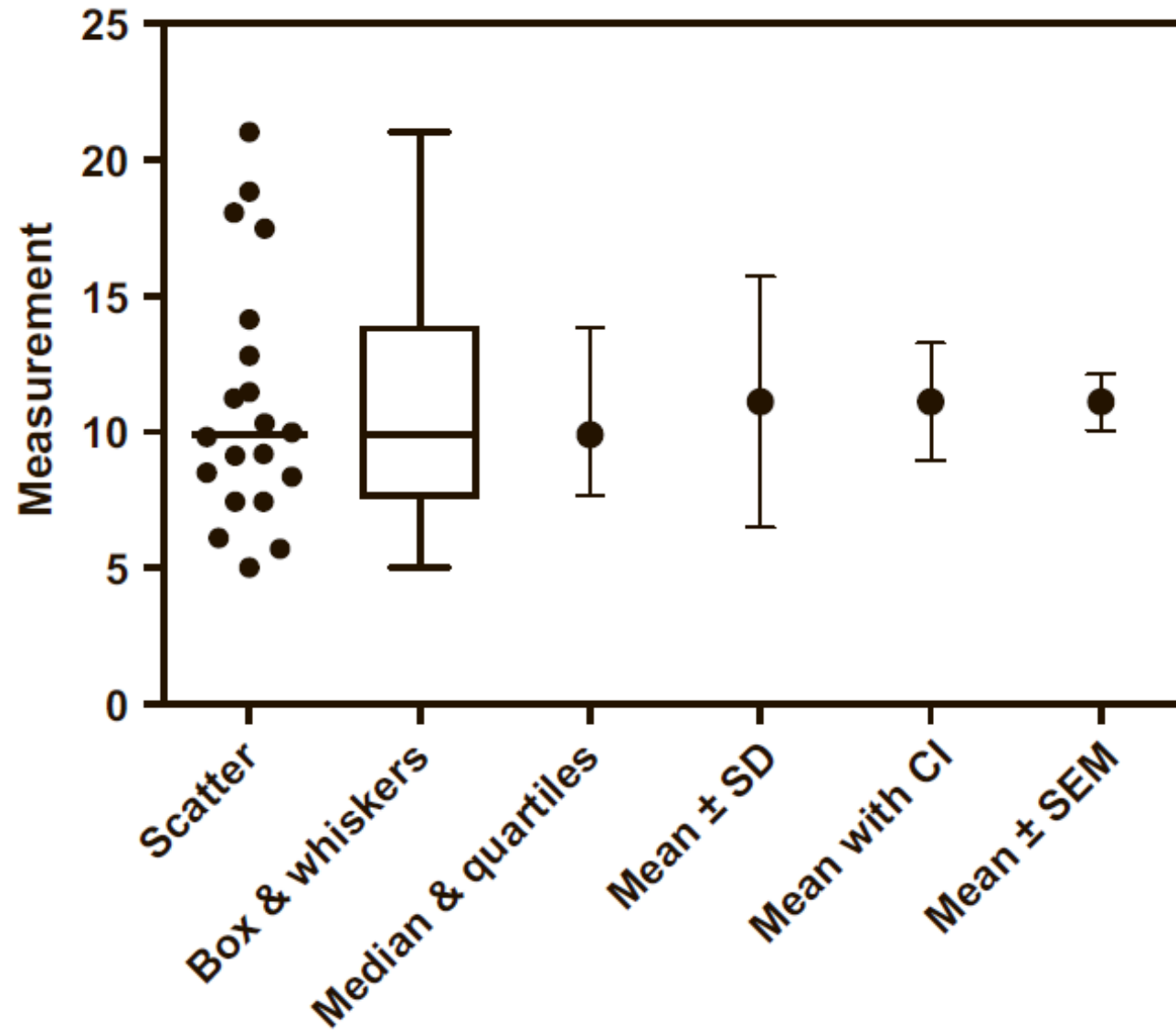
9. Экспериментальные процедуры : что, кто, когда, как ?



10. Представление результатов : размер эффекта и доверительный интервал



10. Представление результатов : адекватная описательная статистика



Дополнительные рекомендации: ARRIVE Recommended Set 2020


- Резюме (абстракт)
- Введение
- Задачи
- Соответствие принципам биоэтики
- Содержание/разведение животных
- Уход за животными и мониторинг здоровья
- Интерпретация результатов
- Трансляционный потенциал
- Регистрация протокола
- Доступ к первичным данным
- Конфликт интересов

PLOS BIOLOGY

COMMUNITY PAGE

Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0

Nathalie Percie du Sert^{1*}, Amrita Ahluwalia^{2,3}, Sabina Alam⁴, Marc T. Avey⁵, Monya Baker⁶, William J. Browne⁷, Alejandra Clark⁸, Innes C. Cuthill⁹, Ulrich Dirnagl¹⁰, Michael Emerson¹¹, Paul Garner¹², Stephen T. Holgate¹³, David W. Howells¹⁴, Viki Hurst¹, Natasha A. Karp¹⁵, Stanley E. Lazic¹⁶, Katie Lidster¹, Catriona J. MacCallum¹⁷, Malcolm Macleod¹⁸, Esther J. Pearl¹, Ole H. Petersen¹⁹, Frances Rawle²⁰, Penny Reynolds²¹, Kieron Rooney²², Emily S. Sena¹⁸, Shai D. Silberberg²³, Thomas Steckler²⁴, Hanno Würbel²⁵

 OPEN ACCESS

Citation: Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, et al. (2020) Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. PLoS Biol 18(7): e3000411. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411>

Academic Editor: Isabelle Boutron, University Paris Descartes, FRANCE



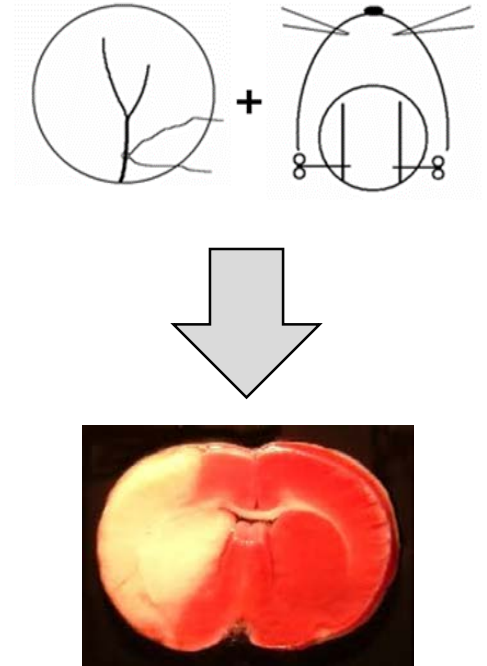
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411>

Различные рекомендации, направленные на повышение качества и воспроизводимости биомедицинских исследований

- ARRIVE: Animal Research – Reporting of In Vivo Experiments
- DEPART: Design and Execution of Protocols for Animal Research and Treatment
- PREPARE: guidelines for planning animal research and testing
- QPBR: Quality Practices in Basic Biomedical Research
- STAIR: Stroke Therapy Academic Industry Roundtable preclinical recommendations

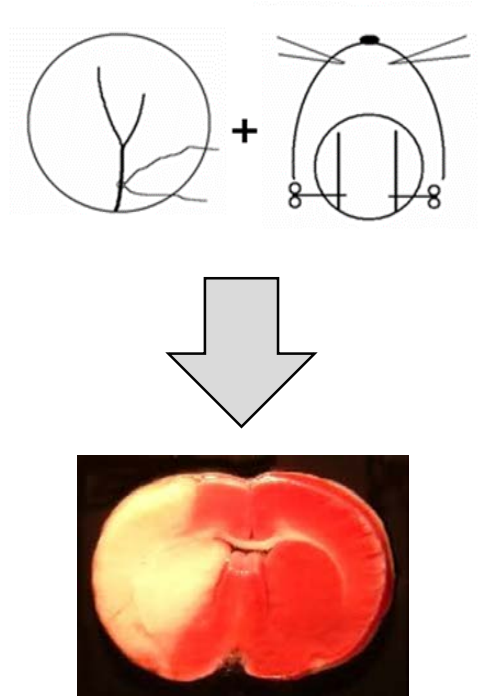
Рекомендации STAIR 1 (1999) по доклинической оценке нейропротекторов

- Физиологический мониторинг (температура, АД, pO₂, pCO₂, pH)
- Рандомизированные исследования с маскированием воздействия
- Сначала опыты на грызунах, затем – на гирэнцефальных видах
- Клинически приемлемое терапевтическое окно и кривая эффект-доза
- Гистологические и функциональные исходы должны оцениваться в раннем (1-3 дня) и позднем (7-30 дней) периоде
- Оценка эффективности в 2 и более лабораториях



Рекомендации STAIR 2 (2009) по доклинической оценке нейропротекторов

- Использование критериев включения/исключения
- Статистическое обоснование объема выборки
- Декларирование конфликта интересов
- Дополнительные исследования на старых животных обоих полов с коморбидностью
- Исследования на фоне применения лекарств, широко применяемых у больных инсультом



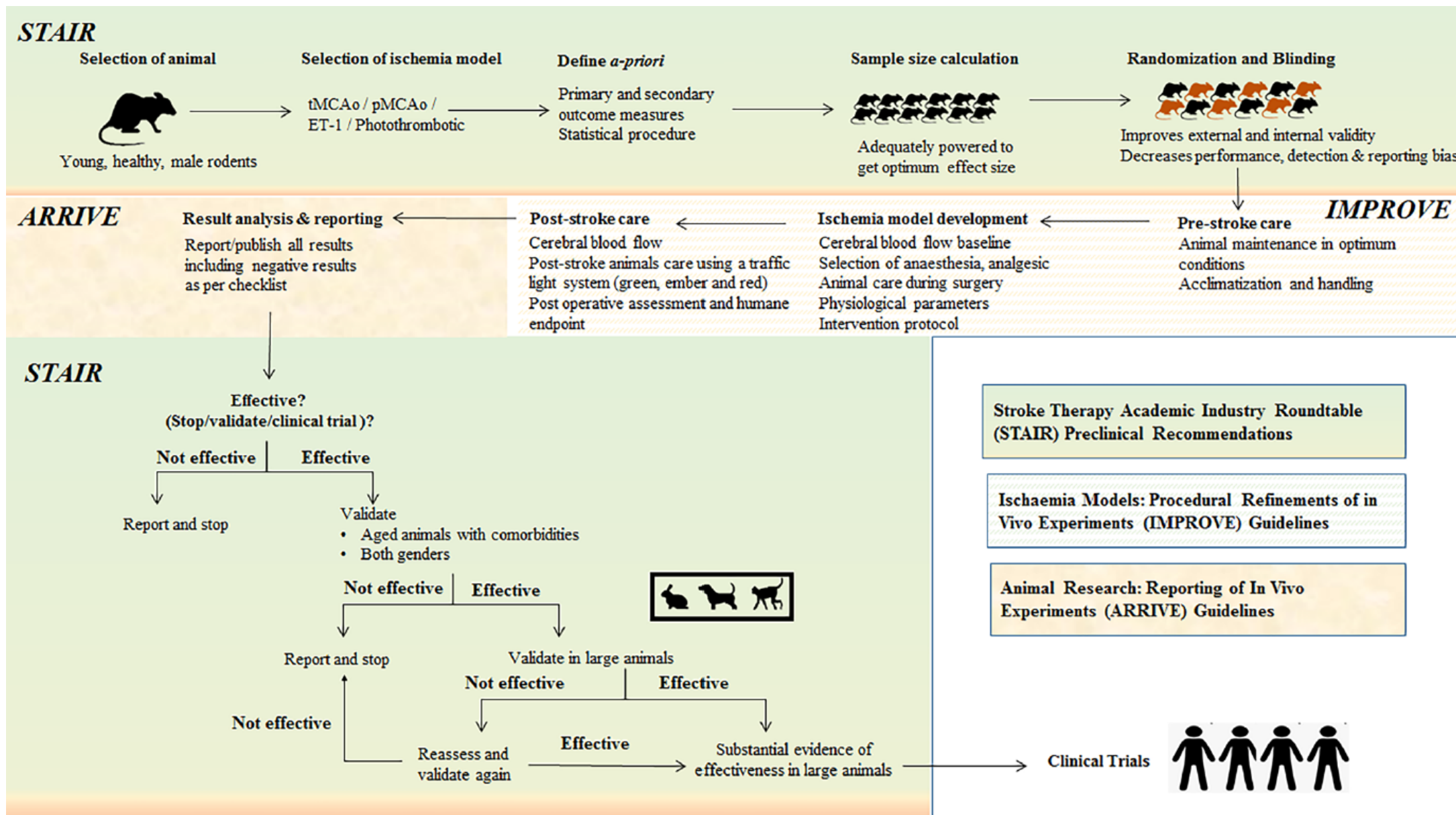
Насколько реально строго следовать гайдлайнам и как это соотносится с 3R?

1. Молодые животные
2. Старые животные
3. Самцы
4. Самки
5. Лекарство 1
6. Лекарство 2
7. Коморбидность 1
8. Коморбидность 2

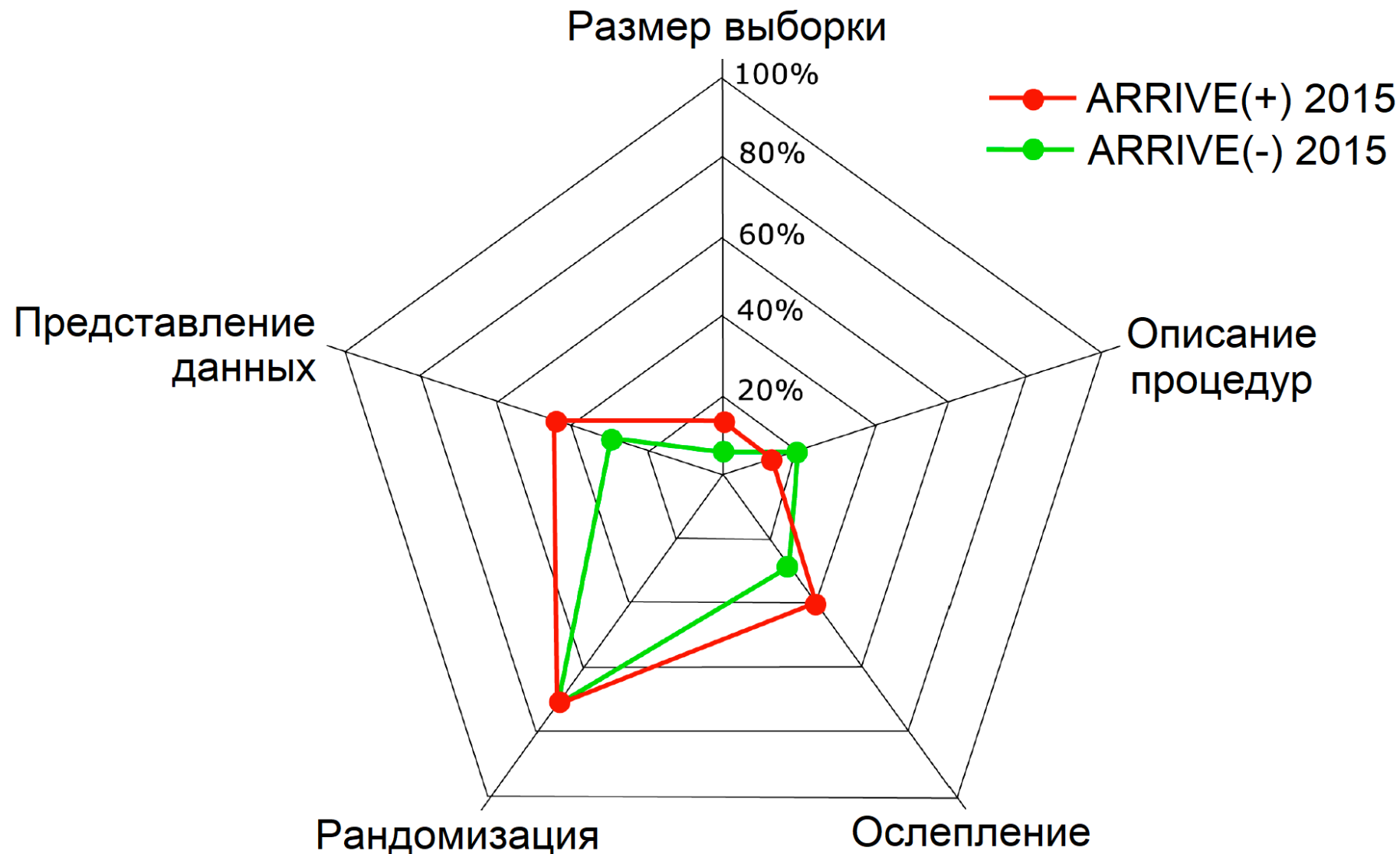
Расчет количества экспериментальных групп:

$$2^N = 2^8 = 256$$

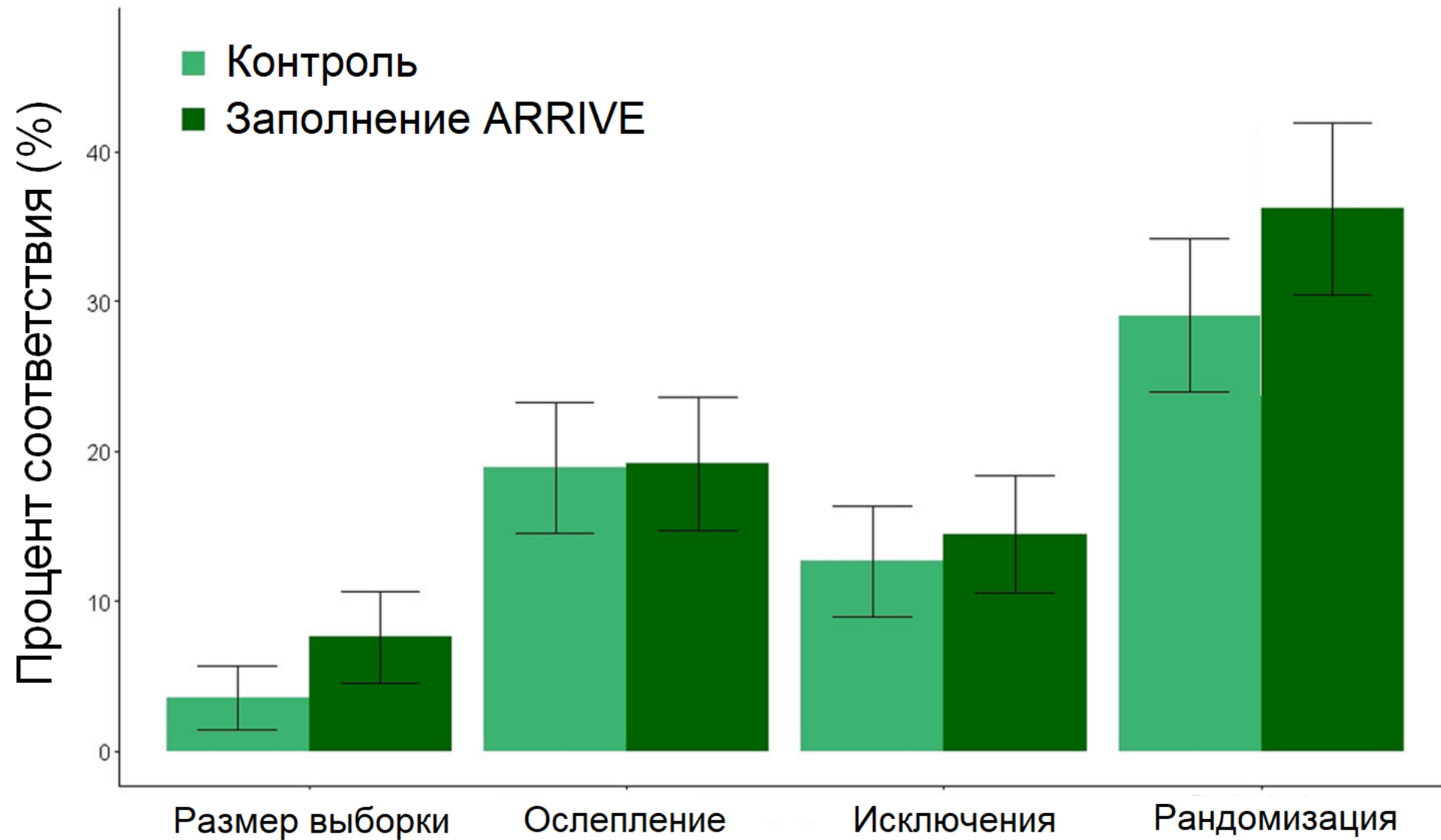
Гармонизация разных рекомендаций: пример в нейропротекции



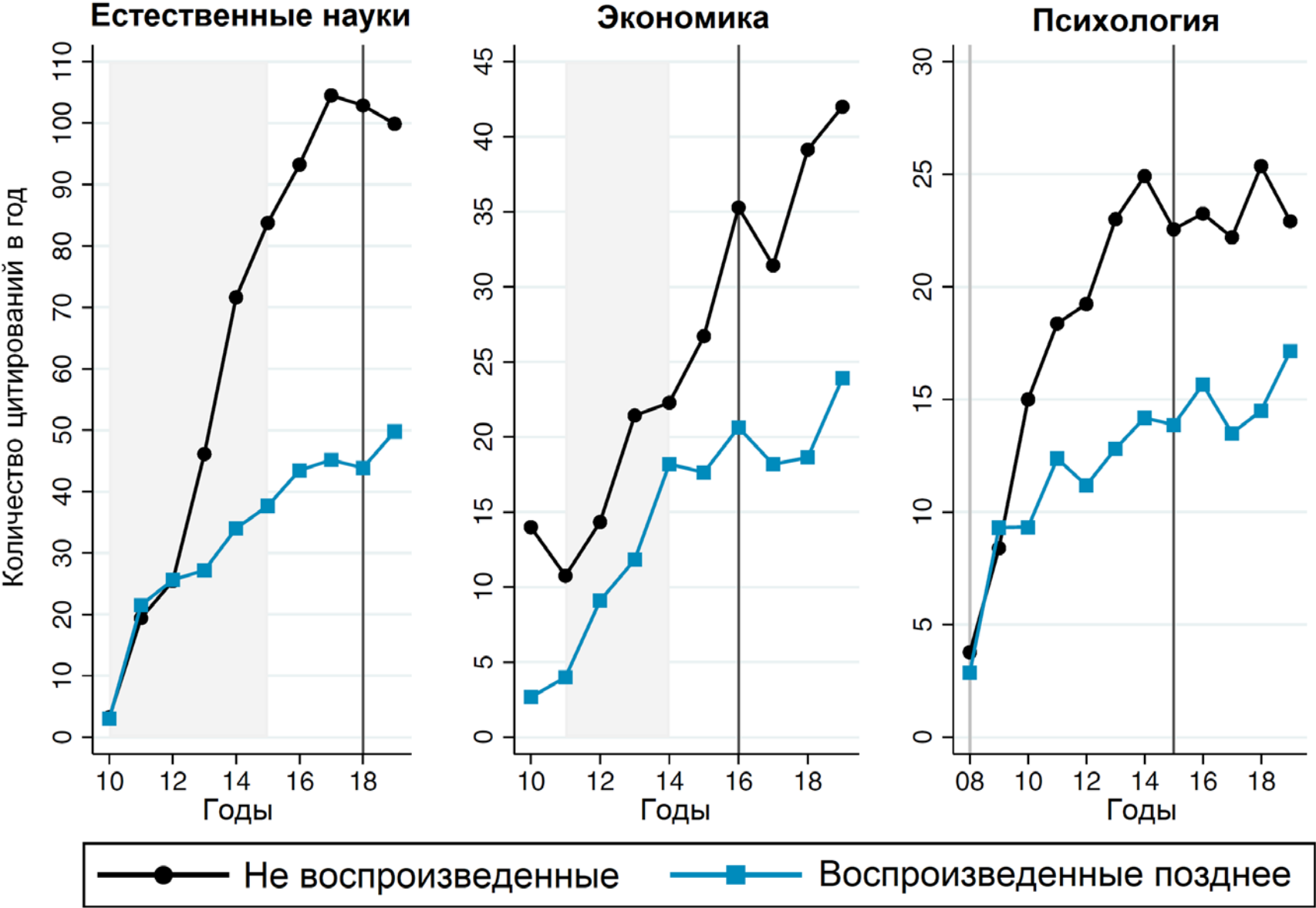
«Соблюдаемость» ARRIVE в 2015 году: ARRIVE has not ARRIVED



IICARus: как повысить «соблюдаемость» ARRIVE ?



Невоспроизводимые результаты цитируются лучше воспроизводимых



Насколько готовы исследователи в России следовать требованиям ARRIVE2.0?



«ARRIVE – позитивность» российских научных журналов составляет ~15%

№	Журнал	ARRIVE
1	Архив патологии	
2	Биомедицина	
3	Бюллетень сибирской медицины	
4	Бюллетень экспериментальной биол. и мед.	
5	Вестник РАМН	
6	Генетика	
7	Гены и клетки	
8	Журнал общей биологии	
9	Журнал эволюционной биохимии и физиол.	
10	Зоологический журнал	

№	Журнал	ARRIVE
11	Лаб. животные для научных исследований	
12	Молекулярная медицина	
13	Морфология	
14	Пат. физиология и эксп. терапия	
15	Регионарное кровообр. и микроциркуляция	
16	Российский физиологический журнал	
17	Трансляционная медицина	
18	Успехи геронтологии	
19	Эксп. и клин. гастроэнтерология	
20	Эксп. и клин. фармакология	

Вероятность соблюдения положений ARRIVE в РФ

№	Положение	Соблюдение
1	Дизайн исследования	Соблюдено
2	Размер групп	Не соблюдено
3	Критерии включения/исключения	Соблюдено
4	Рандомизация	Соблюдено
5	Ослепление	Не соблюдено
6	Итоговые показатели	Не соблюдено
7	Статистическая обработка	Не соблюдено
8	Характеристики животных	Не соблюдено
9	Экспериментальные процедуры	Соблюдено
10	Представление результатов	Не соблюдено

Большинство проблем, вскрывшихся на этапе подачи рукописи, устранить уже невозможно!

Благодарю за
внимание!

