



Мета-анализ как эффективный инструмент планирования доклинических исследований

Вербицкая Елена Владимировна
Вековищева Ольга Юрьевна
отдел биомедицинской статистики,
ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова

GLP-PLANET IV
29 июня 2023 г
г. Санкт-Петербург



Систематический обзор



- **Систематический обзор** - Применение научной методики, ограничивающей смещения (bias) для систематического объединения, критической оценки и синтеза всех существенных исследований на определенную тему
- **Мета-анализ** - Систематический обзор, включающий статистические методы объединения и суммирования результатов нескольких отдельных исследований

Виды обзоров



- Описательный (Литературный)
- Систематический
- Мета-анализ.



Отличие систематических обзоров от обзоров литературы

Характеристика	Литературный обзор	Систематический обзор
Освещаемые вопросы	Широкий спектр вопросов	Конкретный клинический вопрос
Стратегия поиска литературных источников	Произвольная	Всеобъемлющая, определяется протоколом исследования
Оценка качества включаемых исследований	Может отсутствовать	Присутствует
Отбор фактов для включения в обзор	Произвольный	В соответствии с критериями включения
Обобщение данных	Обычно качественное, описательное	Часто количественное (мета-анализ)

Что такое мета-анализ?

- объединяет результаты двух или более исследований
- оценивает 'средний' или 'общий' эффект
- необязательная часть систематического обзора



Актуальность



- В последнее время получены многочисленные эмпирические данные, свидетельствующие о том , что **полезность данных**, полученных в ходе экспериментов по проверке эффективности лекарств на животных моделях различных заболеваний, **может быть существенно снижена** в следствии
 - ограниченного методологического качества,
 - ограниченной обобщающей способности
 - значительной ошибки (bias) публикации.

[Emily S Sena](#), [Gillian L Currie](#), [Sarah K McCann](#), [Malcolm R Macleod](#), and [David W Howells](#) Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: why perform them and how to appraise them critically//J Cereb Blood Flow Metab. 2014 May; 34(5): 737–742.

Цель



- описать концепции систематического обзора и мета-анализа
- рассмотреть, как эти инструменты могут быть использованы для предоставления эмпирических данных,
- подтолкнуть область к улучшению строгости проведения и отчетности доклинических исследований, подобно тому, как они используются для улучшения проведения и отчетности рандомизированных контролируемых испытаний в клинических исследованиях.

Для чего проводить мета-анализы?

- Количественно оценить эффекты лечения и их неопределенность
- Увеличить мощность
- Увеличить точность
- Исследовать различия между исследованиями
- Разрешать несогласованность противоречивых исследований
- Генерировать новые гипотезы

Когда не делать мета-анализ

- **Смешение яблок с апельсинами**
 - Каждое включенное исследование должно обращаться к одному и тому же вопросу
 - Рассмотрите сравнения и исходы
 - Требуется Ваше субъективное суждения
 - Объединение широкого набора исследований отвечает на широкие вопросы
 - Ответ может не иметь никакого смысла и истинные эффекты могут быть не видны, если исследования слишком разнообразны

Качество обзора

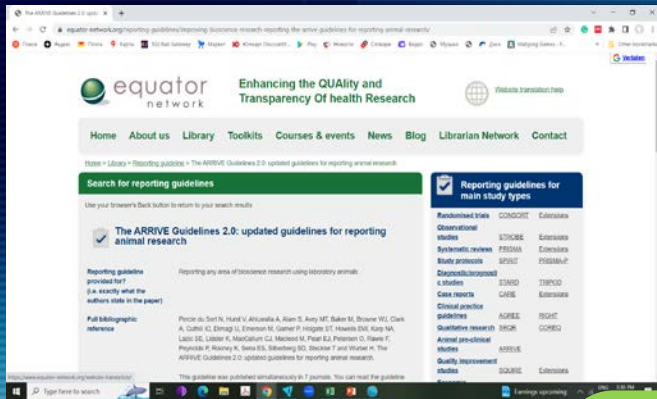


Когда не делать мета-анализ

- **Мусор на входе – мусор на выходе**
 - Мета-анализ только настолько хорош, насколько хороши включенные в него исследования
 - Если включенные исследования смещены (предвзяты):
 - Результат мета-анализа также будет неправильным
 - Создаст впечатление большей достоверности с более узким доверительным интервалом
 - Если присутствует серьезное публикационное смещение:
 - Нерепрезентативный набор исследований может дать результат, вводящий в заблуждение

Reporting guideline website URL

<https://www.arriveguidelines.org>



Руководство ARRIVE 10 (Исследования на животных: отчеты об экспериментах in vivo)

- Основные 10 пунктов - список рекомендаций по улучшению отчетности об исследованиях с участием животных,

максимальное повышение:

- 1) качества исследования
- 2) надежности исследования

и позволяет другим:

- 1) лучше понимать полученные результаты,
- 2) оценивать полученные результаты,
- 3) воспроизводить их.

Без этой информации:

- а) читатели и рецензенты не могут оценивать достоверность результатов
- б) результаты отчета (статьи) не смогут быть включены в обзоры и мета- анализ

ARRIVE 10

Основные пункты рекомендуемых параграфов

Из наблюдений рецензента

(по российским публикациям)

ARRIVE guidelines	>			
Essential 10	^			
1. Study Design	>	1A) The sample size: single animals, litter, cage of animals, biocells, cell organelle) per group	±	иногда становится понятно
2. Sample size	>	1B) Group definitions, N	+	только после прочтения Методов
3. Inclusion and exclusion criteria	>	1C) Control group definitions	±	нечеткое, иногда не упоминается
4. Randomisation	>	1D) Visual representation of complex study design by diagram	-	Отсутствует, не смотря на усложняющийся дизайн
5. Blinding/Masking	>	2A) Group size	+	
6. Outcome measures	>	2B) Total N of samples in experiment	-	отсутствует
7. Statistical methods	>	2C) Total N of samples used	-	отсутствует
8. Experimental animals	>	2D) How the sample size was decided	-	отсутствует
9. Experimental procedures	>			
10. Results	>			
Recommended Set	∨			
Glossary	>			

		6A) to describe what was measured	+	
		6B) to define ALL outcome measures: positive and negative	±	Информация не предоставляется
		7A) software used	±	Используются несертифицированные стат. программы или очень старые версии
		7B) details of the statistical methods used	±	Информация предоставляется формально: используемые стат методы зачастую не соответствуют характеру выборки
		7C) why those statistical methods were used	-	отсутствует
		8A) species-appropriate details: strain, substrain, sex, age, weight	±	
		8B) The animals' provenance: health or immune status, genotype	±	
		9A) describe the procedures in enough detail to allow others to replicate them	±	
		10A) Summary / descriptive statistic for each group	±	представление графическое, зачастую не соответствует характеру выборки

← ? отсутствует

Риск систематических ошибок (bias)

Sena ES, Currie GL, McCann SK, Macleod MR, Howells DW. Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: why perform them and how to appraise them critically. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014 May;34(5):737-42. doi: 10.1038/jcbfm.2014.28. Epub 2014 Feb 19. PMID: 24549183; PMCID: PMC4013765.

Table 1

Number and percentages of studies across the modeling of different neurologic diseases reporting measures to reduce the risk of bias

	<i>Number of publications</i>	<i>Masked assessment of outcome (%)</i>	<i>Random allocation to group (%)</i>	<i>Allocation concealment (%)</i>	<i>Sample size calculation (%)</i>
Alzheimer's disease ³⁰	428	95 (22)	67 (16)	NA	0 (0)
Multiple sclerosis ¹¹	1,117	178 (16)	106 (9)	NA	2 (<1)
Parkinson's disease ³¹	252	38 (15)	40 (16)	NA	1 (<1)
Intracerebral hemorrhage ³²	88	43 (49)	27 (31)	7 (8)	0 (0)
<i>Focal ischemia</i>					
NXV 059 ¹³	9	4 (44)	3 (33)	5 (56)	2 (22)
Hypothermia ¹²	101	38 (38)	36 (36)	4 (4)	0 (0)
Erythropoietin ³³	19	8 (42)	7 (37)	4 (21)	0 (0)
Tirilazad ³⁴	18	13 (72)	12 (67)	1 (6)	0 (0)
tPA ¹⁴	113	24 (21)	42 (37)	23 (20)	8 (7)

[Open in a separate window](#)

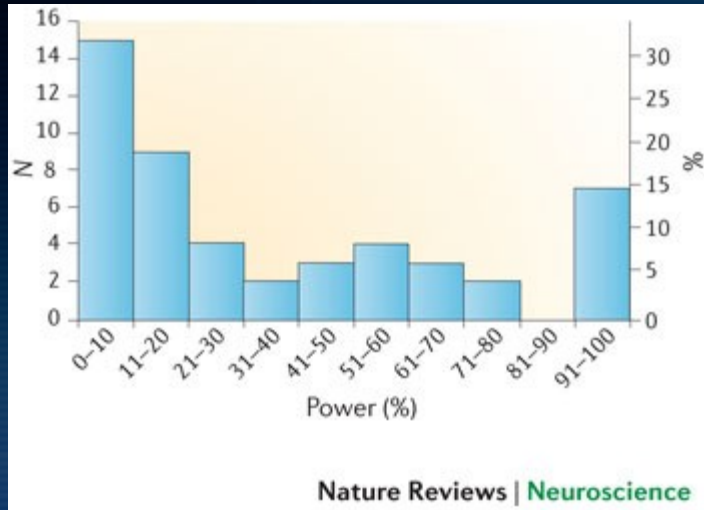
NA, not applicable; tPA, tissue plasminogen activator.

Размер выборки



- Низкая мощность, по определению, означает, что шанс обнаружения действительно истинных эффектов низка.
- Исследования с низкой мощностью дают больше ложноотрицательных результатов, чем исследования с высокой мощностью.
 - Когда исследования в данной области планируются с мощностью 20%, это означает, что если в этой области необходимо обнаружить 100 истинных не нулевых эффектов, то ожидается, что эти исследования обнаружат только 20 из ни
- низкая мощность также снижает вероятность того, что статистически значимый результат отражает истинный эффект

Median power of studies included in neuroscience meta-analyses



Гистограмма медианной мощности исследования, рассчитанной для $n = 49$ мета-анализов, с количеством мета-анализов (N) по левой оси и процентом мета-анализов (%) по правой оси.

$n = 15$ (31%) мета-анализов включали исследования с медианной мощностью менее 11%,

$n = 7$ (14%) включали исследования с высокой средней мощностью, превышающей 90%.

Большинство мета-анализов включали исследования с низкой статистической мощностью: $n = 28$ (57%) имели медианную мощность исследования менее 31%.

Пример

Received: 29 December 2022 | Revised: 17 April 2023 | Accepted: 30 April 2023
DOI: 10.1111/ejn.16090

REVIEW ARTICLE

EJN European Journal of Neuroscience FENS WILEY

Meta-analysis of the effects of anti-migraine therapeutics in the rat trigeminovascular nociception model as a tool for design optimization

Antonina Dolgorukova¹ | Ekaterina Protsenko¹ | Julia Isaeva¹ |
Victoria Gagloeva² | Elena Verbitskaya¹ | Regina Berkovich³ |
Alexey Y. Sokolov^{1,4}

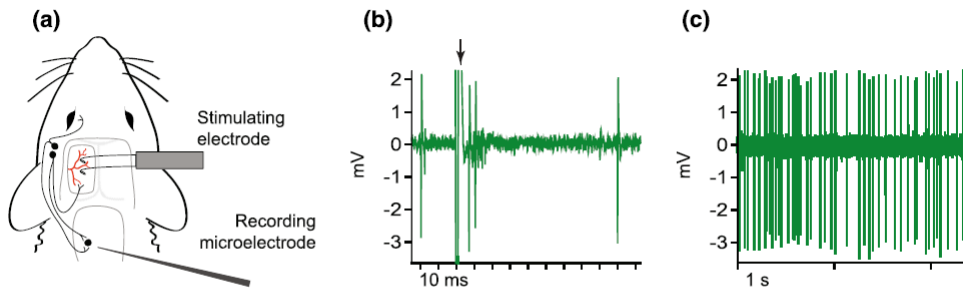
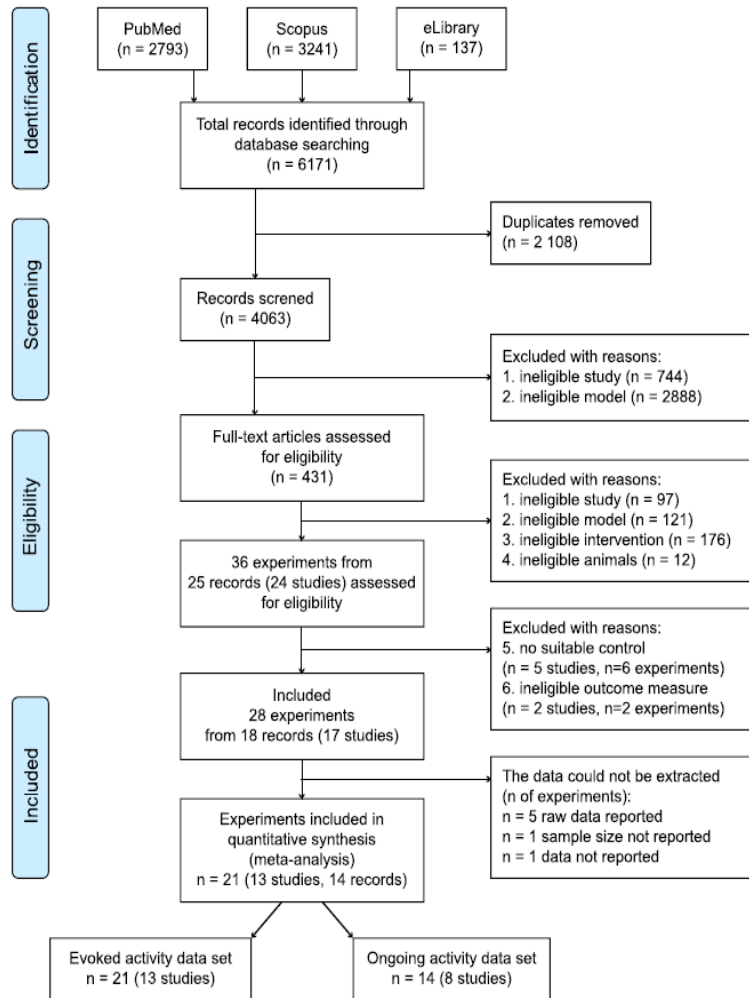
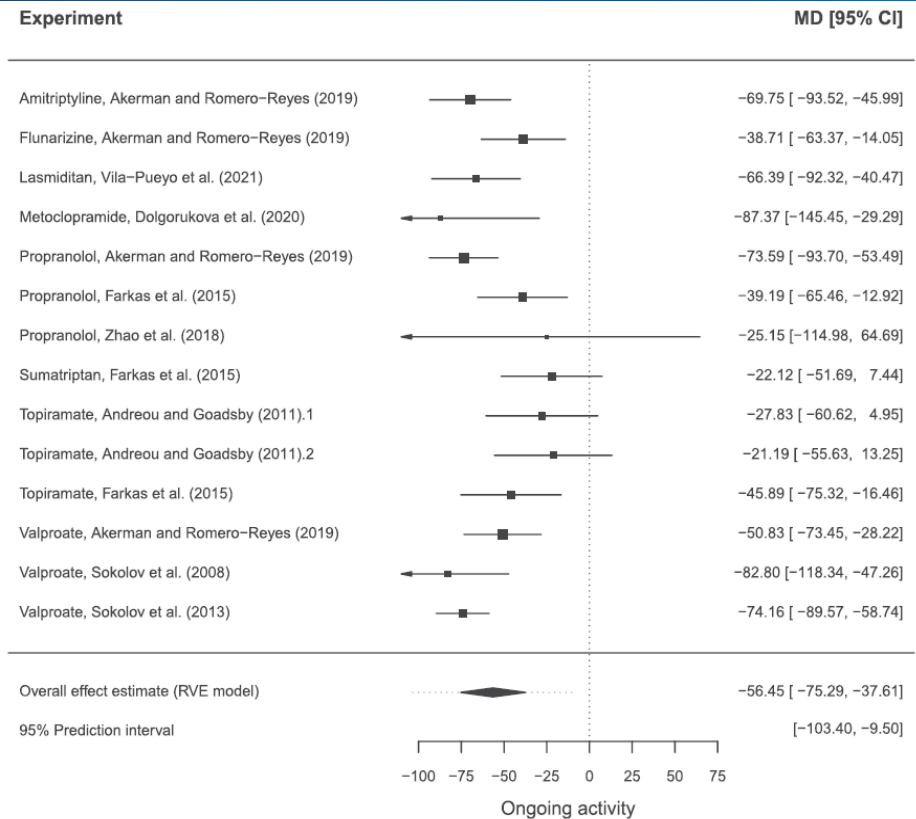
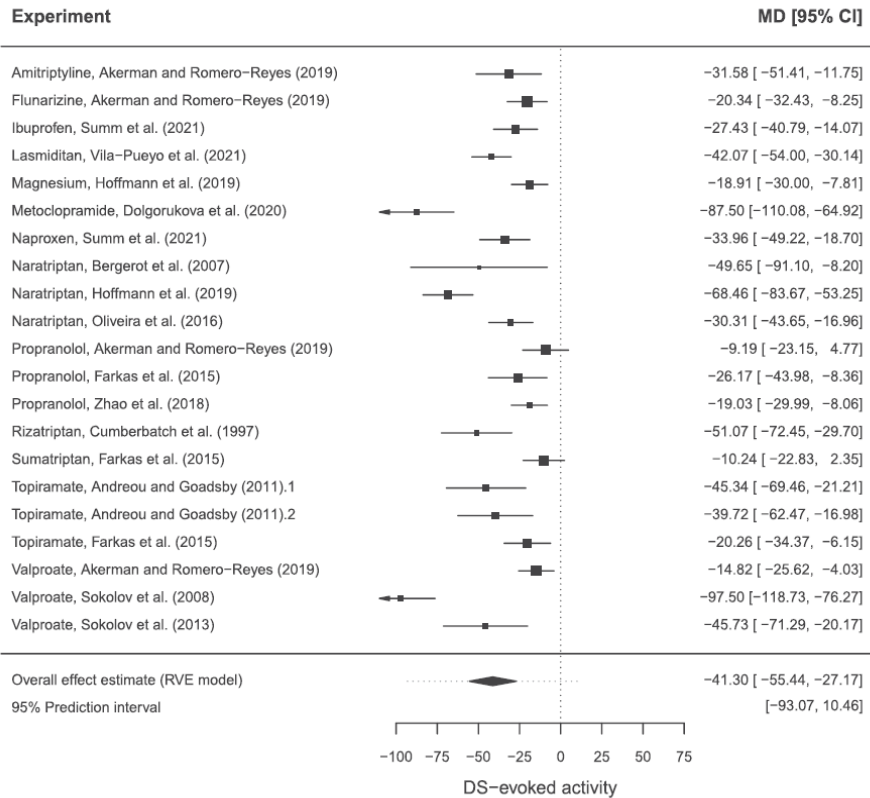


FIGURE 1 Example of the experimental setup in the rat electrophysiological model of trigeminovascular nociception: the bipolar stimulating electrode is placed on the exposed dura mater for electrical stimulation; the recording microelectrode, immersed in the trigeminal complex, receives signals from neurons with cutaneous and dural convergent inputs (a). Trigeminal ganglion or thalamic nuclei may also be recorded. (b) An excitatory response to electrical stimulation of the dura mater—the evoked neuronal activity. The arrow indicates the stimulus artifact. (c) The ongoing activity of a typical trigeminovascular neuron.



Для чего проводить мета-анализы?

- Количественно оценивать эффекты лечения и их неопределенность
- Увеличивать мощность
- Увеличивать точность
- Исследовать различия между исследованиями
- Разрешать несогласованность противоречивых исследований
- Генерировать новые гипотезы



Forest plot of the 21 experiments - the drugs' effects on the **dural stimulation-evoked (DS-evoked) activity**
13 studies (1 - 4 experiments per study, mean = 1.6).

Forest plot of the 14 experiments - the drugs' effects on the **ongoing activity**
8 studies (1 - 4 experiments per study, mean = 1.8).

Суммарная оценка эффекта

TABLE 4 The results before and after the removal of the influential outliers.

Analysis	MD	95%CI	<i>p</i>	Between-study I^2	Within-study I^2	Overall I^2	Sample variance	95%PI
All experiments	41.3	55.4 to 27.2	<.001	59.2%	30.5%	89.7%	10.3%	93.1 to 10.5
Outliers removed	31.3	40.3 to 22.3	<.001	20.6%	56%	76.5%	23.5%	62.9 to .2

Note: The removed influential outliers were metoclopramide tested in Dolgorukova et al. (2020), and valproate tested in Sokolov et al. (2008). CI, confidence interval, MD, mean difference between treatment and control in %change of neuronal activity from baseline, PI, prediction interval.

Для чего проводить мета-анализы?

- Количественно оценивать эффекты лечения и их неопределенность
- Исследовать различия между исследованиями
 - Оценить факторы влияющие на результат
- Разрешать несогласованность противоречивых исследований
- Увеличивать мощность
- Увеличивать точность
- Генерировать новые гипотезы

Возможные причины гетерогенности

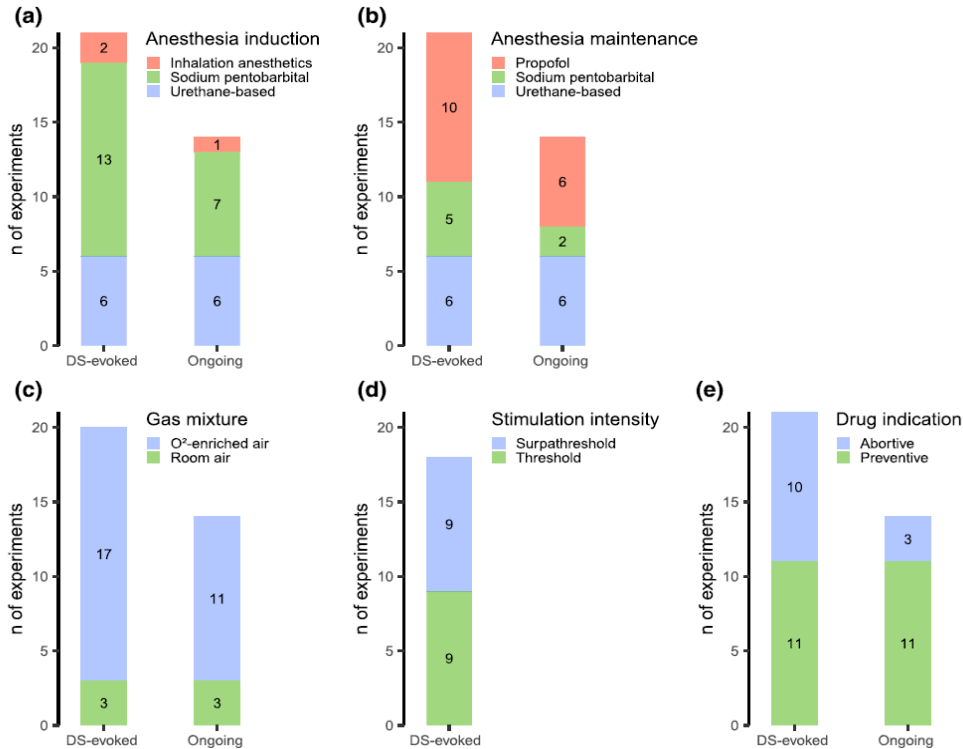


FIGURE 3 Categorical factors assessed in the subgroup analyses. Anaesthesia induction (a) and maintenance (b), gas mixture used for artificial ventilation (c), intensity of electrical dural stimulation (d) and the indication of studied drugs (e). Urethane-based anaesthesia means that urethane was used with or without alpha-chloralose.

- gas mixture ($F[1, 8] = 14.82, p = 0.005$).
- the anesthetic used ($F[2, 8] = 4.83, p = 0.042$)

Для чего проводить мета-анализы?

- Количественно оценивать эффекты лечения и их неопределенность
- Исследовать различия между исследованиями
- **Разрешать несогласованность противоречивых исследований**
- Увеличивать мощность
- Увеличивать точность
- Генерировать новые гипотезы

Оценка систематических ошибок

TABLE 1 Risk of bias assessment.

Bias	Low	High	Unclear
Selection bias: Randomization	Valid method reported	Inappropriate method reported	Randomization not reported; method not reported
Selection bias: Sample size calculation	Valid method reported	Inappropriate method reported	Sample size calculation not reported; method not reported
Selection bias: Similarity at baseline and/or accounting for baseline fluctuations in the analysis	The absence of between-group difference in the outcome at baseline or accounting for baseline fluctuations in the analysis reported	Between-group difference reported without accounting in the analysis	Between-group comparisons of baseline data not reported
Performance bias: Blinding	Blinded assessment of outcome reported	Reported that blinding was not performed	Blinded assessment of outcome not reported
Attrition bias: Incomplete outcome data	Number of units tested is equal to the number of units for which the outcome is reported	Number of units tested is not equal to the number of units for which the outcome is reported; animal/neuron exclusions reported without providing a reason; exclusion of non-responders	Not enough data to score.

Оценка систематических ошибок

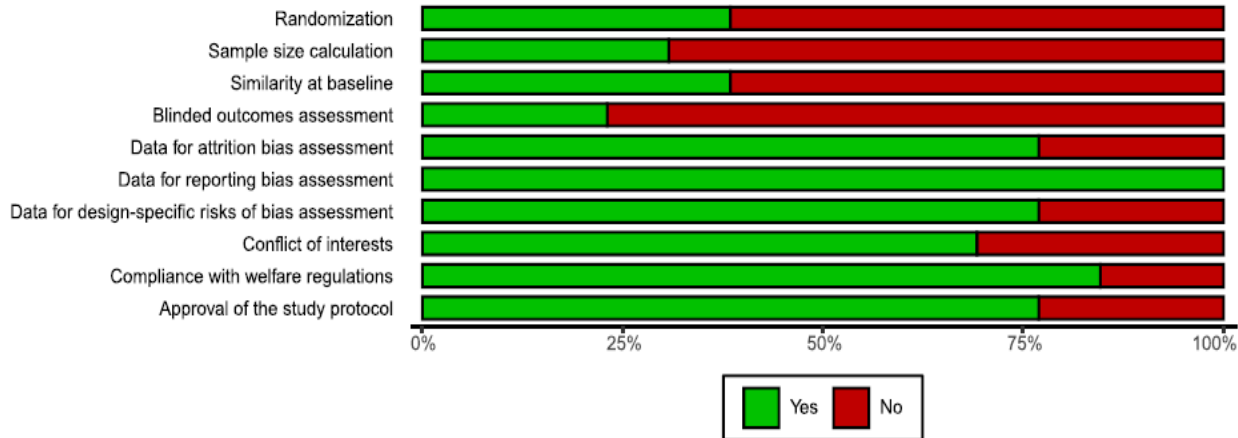
TABLE 1 Risk of bias assessment.

Bias	Low	High	Unclear
Reporting bias: Selective outcome reporting	Outcomes reported in methods and results section of the article are similar	Outcomes reported in methods and results section differ	Outcomes not reported in methods or results section of the article
Influence of funders	The authors declare that there was no conflict of interests	At least one author is affiliated with the organization that provided the studied drug or the research was supported by the organization that provided the studied drug	Not enough data to score
Design-specific bias	Parallel study design and the absence of biological replicates reported or biological replicates were addressed in the analysis	Biological replicates, which have not been adequately addressed in the analysis reported	Not enough data to score

Note: By biological replicates is meant the recording of more than one neuron/neuronal cluster in one animal.

(a)

Reporting measures to reduce the risk of bias and methodological quality criteria



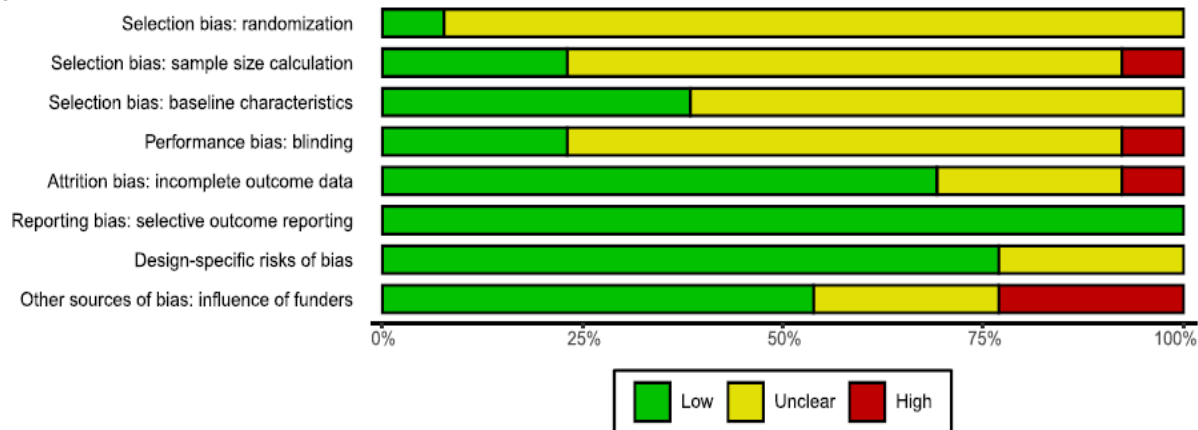
Сводные гистограммы

- доля исследований, в которых сообщалось о мерах по снижению риска систематических ошибок и методологических критериях качества,
- доля исследований с низким, высоким и неясным риском систематических ошибок по каждому критерию

для 13 включенных исследований.

(b)

Risk of bias



Для чего проводить мета-анализы?

- Количественно оценивать эффекты лечения и их неопределенность
- Исследовать различия между исследованиями
- Разрешать несогласованность противоречивых исследований
- Увеличивать мощность
- Увеличивать точность
- Генерировать новые гипотезы

Расчет размера выборки

TABLE 5 The number of animals per group required to detect the specified effects of anti-migraine drugs in the EMTVN with 80%–95% power.

Evoked activity				Ongoing activity			
Power = 80%							
Expected MD	Expected variance			Expected MD	Expected variance		
	13.8% (small)	17% (medium)	24.5% (large)		25.2% (small)	30.3% (medium)	33.6% (large)
31.3% (large)	5	7	12	56.4% (large)	5	6	8
25.1% (medium)	7	9	17	45.2% (medium)	7	9	11
15.7% (small)	14	21	42	28.2% (small)	15	21	25
Power = 85%							
Expected MD	Expected variance			Expected MD	Expected variance		
	13.8% (small)	17% (medium)	24.5% (large)		25.2% (small)	30.3% (medium)	33.6% (large)
31.3% (large)	5	7	13	56.4% (large)	6	7	8
25.1% (medium)	7	10	20	45.2% (medium)	8	10	12
15.7% (small)	16	24	48	28.2% (small)	17	23	28

Заключение



- СО и МА предоставляют эмпирические данные
 - для улучшения дизайна, методов и анализа исследований
 - получения объективных результатов
 - повышения удобства использования,
 - доступности и воспроизводимости,
 - тем самым повышая ценность и сокращая потери от исследований.
- **Необходимость стандартизации моделей**
- СО и МА не могут преодолеть недостаток доказательств и не исправляют предвзятости (Gurevitch et al. 2018).
- Систематические обзоры позволяют использовать имеющиеся данные, предотвратить ненужное дублирование экспериментов и предлагают средства для поддержки научных и технологических разработок, которые заменяют, сокращают или совершенствуют использование животных в исследованиях (например, как продемонстрировали де Врис и др.17).



- Soliman N, Rice ASC, Vollert J. A practical guide to preclinical systematic review and meta-analysis. *Pain*. 2020 Sep 1;161(9):1949-1954. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001974. PMID: 33449500; PMCID: PMC7431149.
- **Руководство ARRIVE 10** <https://www.arriveguidelines.org>
- Sena ES, Currie GL, McCann SK, Macleod MR, Howells DW. **Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: why perform them and how to appraise them critically.** *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014 May;34(5):737-42. doi: 10.1038/jcbfm.2014.28. Epub 2014 Feb 19. PMID: 24549183; PMCID: PMC4013765.
- Button, K., Ioannidis, J., Mokrysz, C. *et al.* Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nat Rev Neurosci* **14**, 365–376 (2013). <https://doi.org/10.1038/nrn3475>
- Gurevitch J, Koricheva J, Nakagawa S, Stewart G. Meta-analysis and the science of research synthesis. *Nature* 2018;555:175–82.



Спасибо за внимание!

Елена В. Вербицкая

Доцент каф. Клинической фармакологии и доказательной
медицины, ФПО

Зав. отделом биомедицинской статистики

ПСПБГМУ им. акад. И.П.Павлова

Elena.verbitskaya@gmail.com

www.farm-spbqmu.ru

