

Галагудза М.М.

Критерии исключения при планировании эксперимента: кто, когда, какие, зачем и как?



GLP Planet V, 5 июля 2024 года

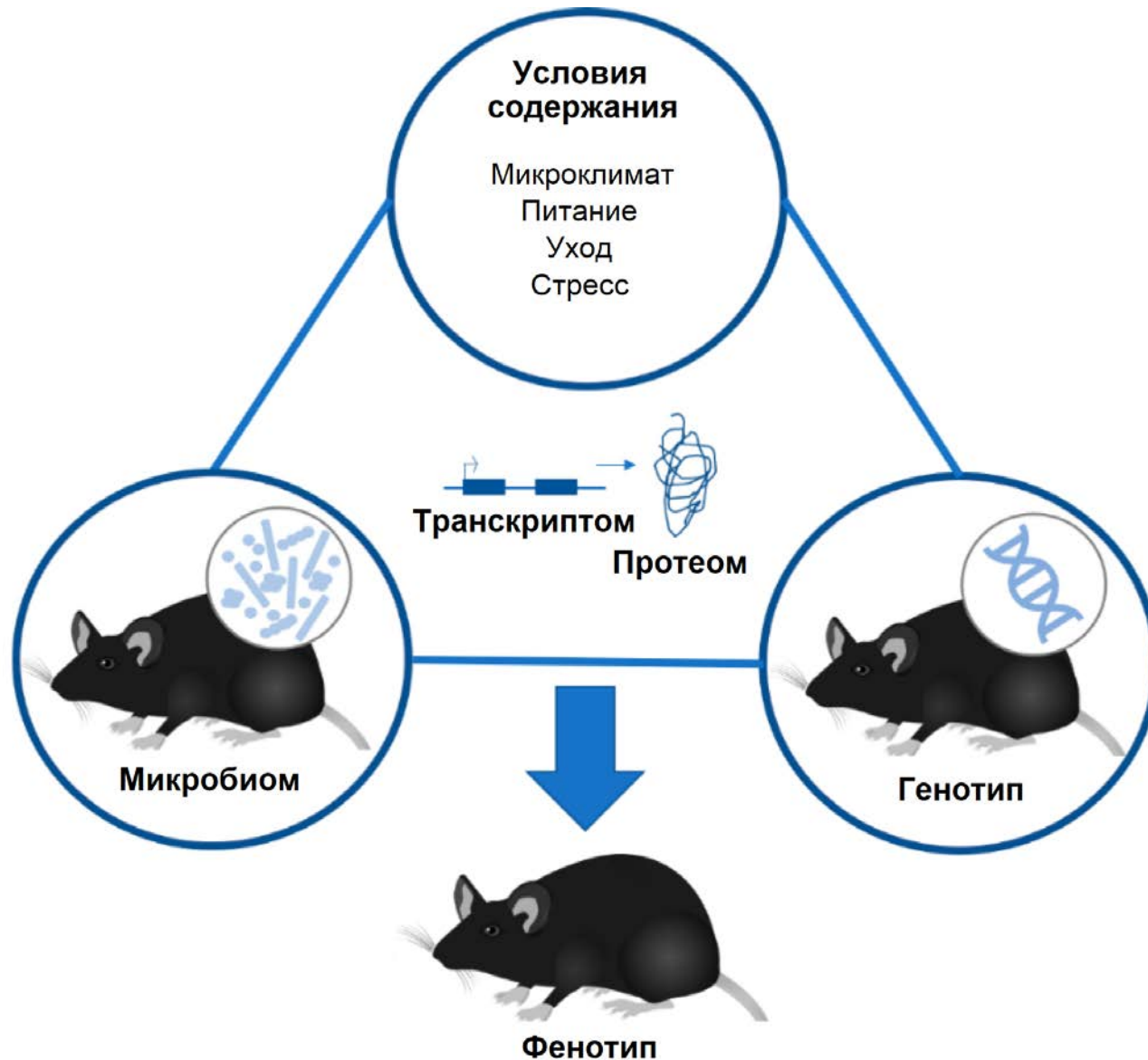
Проблемы с воспроизводимостью экспериментальных данных

- 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)

Определения

- **Критерии включения** – ключевые параметры качества биологической тест-системы, соответствие которым обеспечивает повышение внутренней валидности эксперимента (пол, возраст, микробиологический и генетический статус и т.п.)
- **Критерии исключения** – применяются к особям (значениям), которые исходно соответствовали критериям включения, но до начала эксперимента или в ходе него продемонстрировали особенности, снижающие вероятность получения валидного результата
- Особи или значения, соответствующие критериям включения и оставшиеся после применения критериев исключения, обозначаются как удовлетворяющие **критериям соответствия**

Критерии включения базируются на компонентах качества лабораторных грызунов



К чему приводят слишком жесткие критерии соответствия?

- Однородная, «рафинированная» выборка
- Низкая вариабельность конечной точки
- Надежный контроль конфаундеров
- Выше вероятность подтверждения гипотезы (внутренняя валидность)
- Более низкая внешняя валидность, включая:
 - размер эффекта на выборке из «реальной» жизни
 - соотношение «риск/польза»
 - экстраполируемость
 - воспроизводимость

Обратная пропорциональность внешней и внутренней валидности

Внешняя валидность:

- Внутрिलाбораторная воспроизводимость
- Межлабораторная воспроизводимость
- Возможность экстраполяции на другие виды
- Возможность экстраполяции на человека
- Обратно пропорциональна внутренней валидности

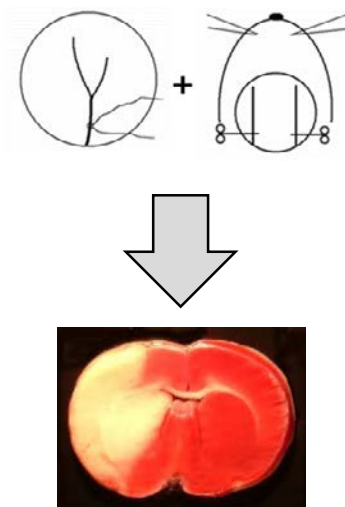


На каких этапах проведения исследования применяются критерии исключения?

- **До начала** эксперимента – уменьшение систематической ошибки отбора (общие и специфические)
- **В ходе** выполнения эксперимента (физиологические, поведенческие, этические, ...)
- **При анализе результатов**, в т.ч. при получении данных описательной статистики (выбросы)

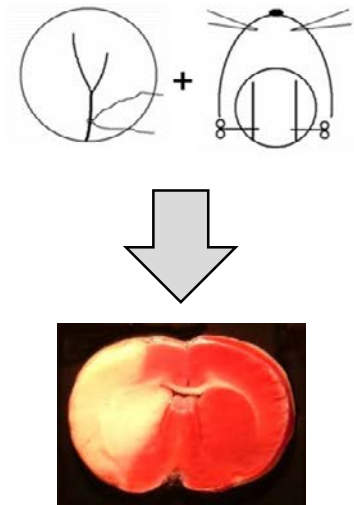
Рекомендации STAIR 1 (1999) по доклинической оценке нейропротекторов

- Физиологический мониторинг (температура, АД, pO_2 , pCO_2 , 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

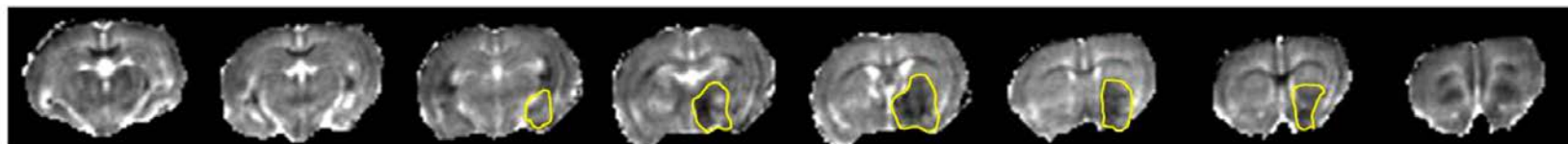


Рекомендации STAIR 2 (2009) по доклинической оценке нейропротекторов

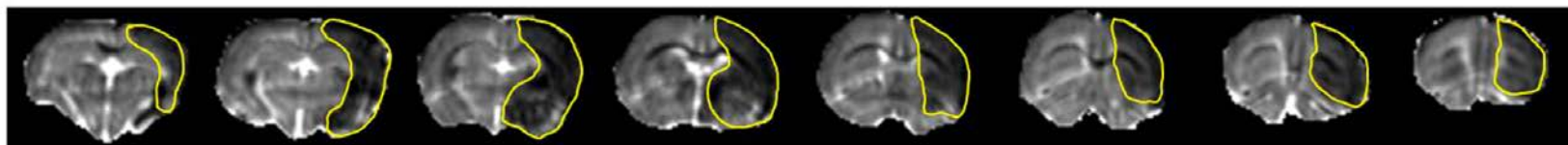
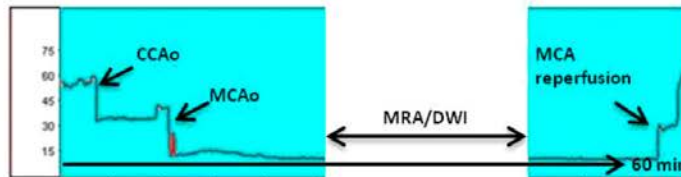
- **Использование критериев включения/исключения**
- Статистическое обоснование объема выборки
- Декларирование конфликта интересов
- Дополнительные исследования на старых животных обоих полов с коморбидностью
- Исследования на фоне применения лекарств, широко применяемых у больных инсультом



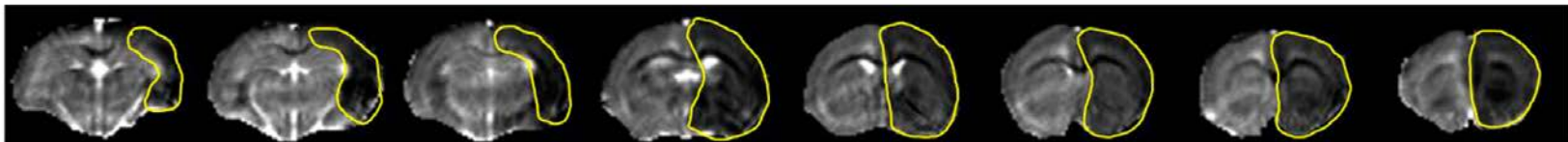
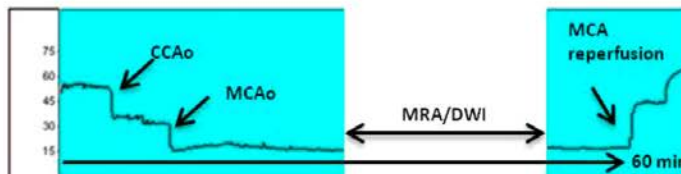
Дополнительные критерии исключения помогают увеличить медиану и уменьшить вариабельность конечной точки



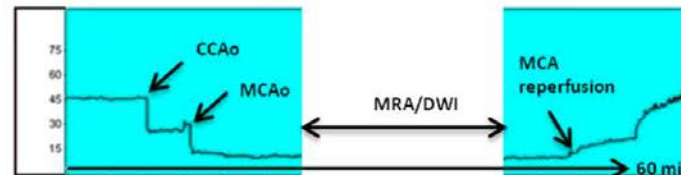
V зоны < 25%



V зоны 25-45%



V зоны > 45%



Виды критериев исключения в ходе эксперимента

- **Физиологические** (температура, ЧСС, АД, pO_2 и т.п.)
- **Биохимические/лабораторные** (уровни биомаркеров)
- **Морфологические** (размер очага некроза от ... до ...)
- **Поведенческие** (отсутствие активности, слишком тяжелый неврологический дефицит для тестирования и т.п.)
- **Этические** (гуманная конечная точка)

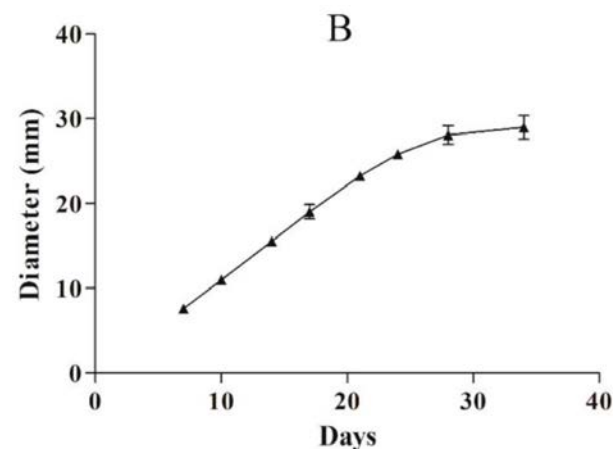
Понятия экспериментальной и гуманной конечной точки

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

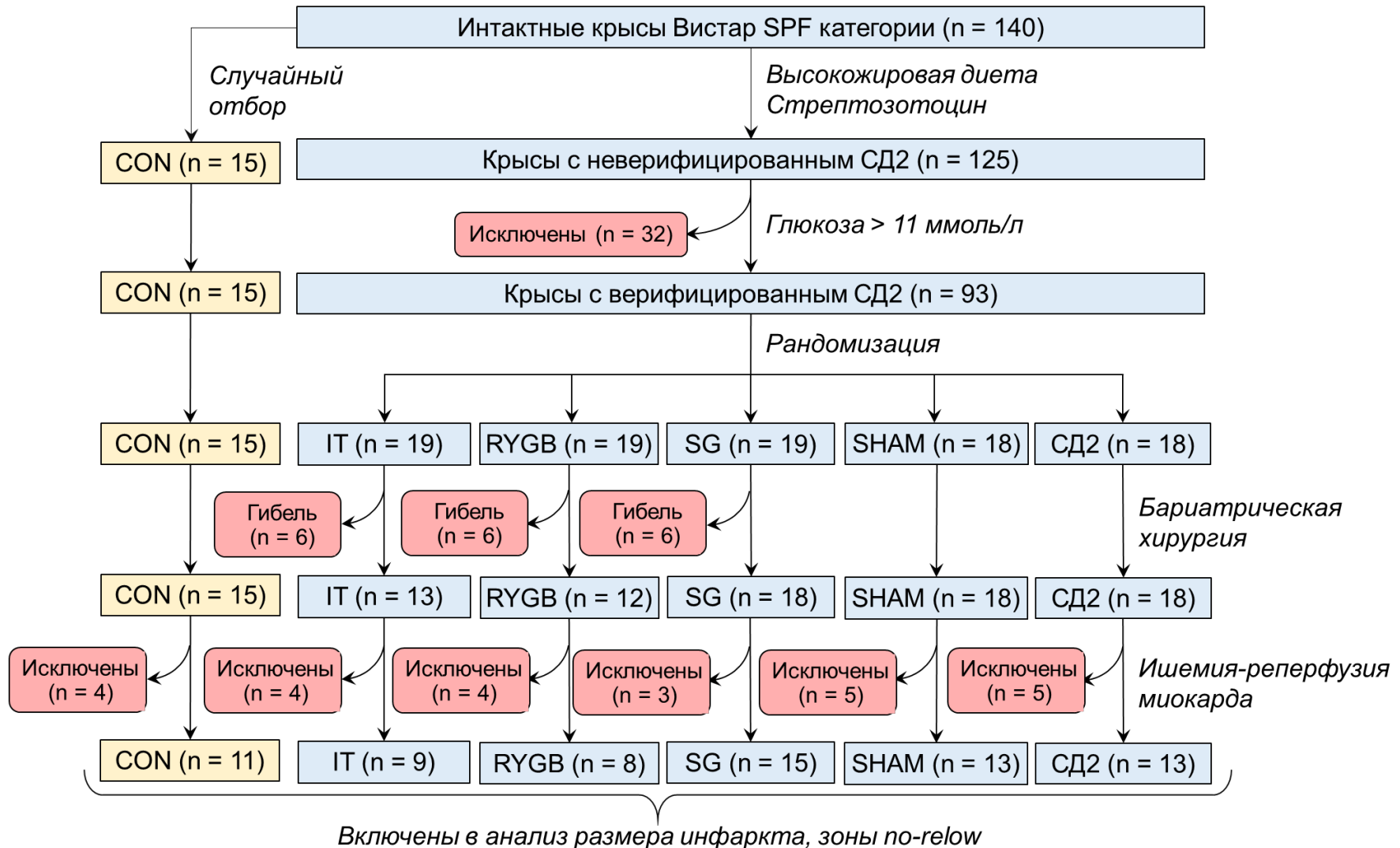
Гуманная конечная точка – завершение эксперимента до момента достижения экспериментальной конечной точки, обычно в результате выполнения эвтаназии в связи с наступлением критического уровня боли и дистресса; решение принимается руководителем исследования и курирующим ветеринарным врачом

Клинические признаки достижения гуманной конечной точки в экспериментах с моделированием опухолей

- Средний диаметр опухоли у мышей $> 1,2$ см, у крыс $> 2,5$ см
- Отсутствие приема воды и пищи > 24 ч
- Снижение массы тела $> 20\%$
- Персистирующая гипотермия
- Гнойные или кровянистые выделения
- Затрудненное дыхание/цианоз
- Парез или слабость задних конечностей
- Тяжелая анемия
- Увеличение размеров живота/асцит
- Недержание кала/диарея более 48 ч
- Опухоли, нарушающие движение, вызывающие вокализацию и боль/дистресс

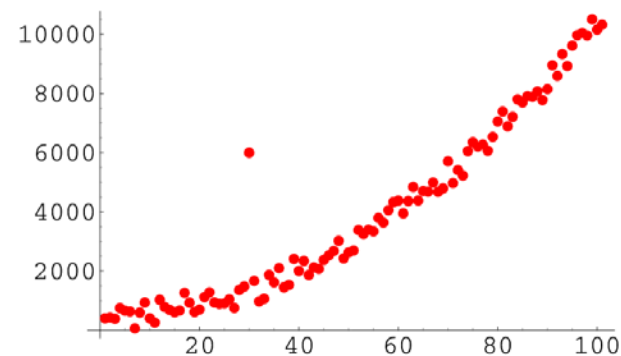
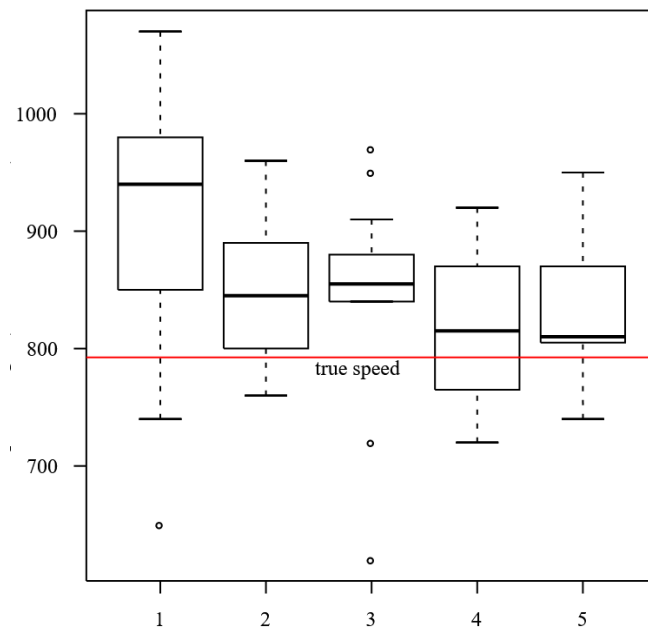


Как должны быть представлены данные о животных, исключенных после начала эксперимента (reporting)?



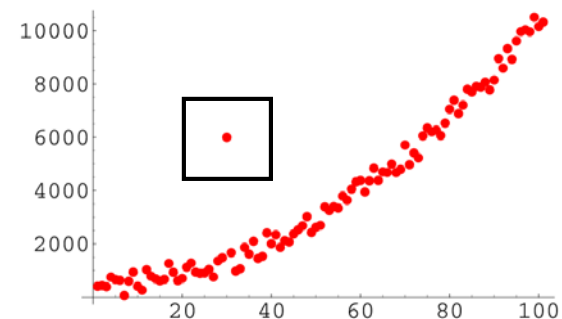
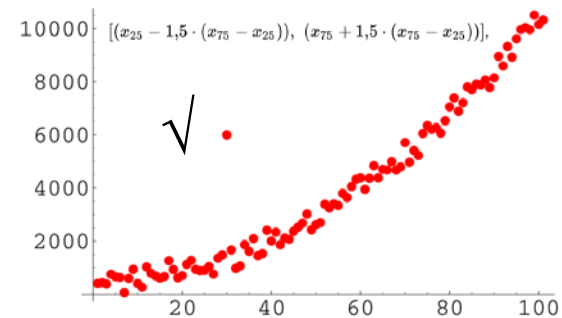
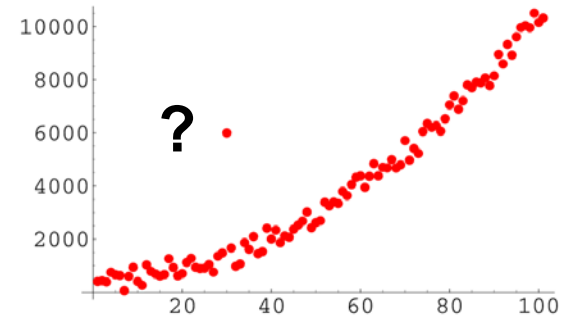
Выбросы (outliers): определение и значение

- Выброс – индивидуальное значение параметра в выборке, далеко отстоящее от всех остальных
- Выбросы могут сделать некорректными большинство статистических выводов
- Выбросы могут быть автоматически обнаружены с помощью специальных тестов и исключены на этапе анализа результатов эксперимента

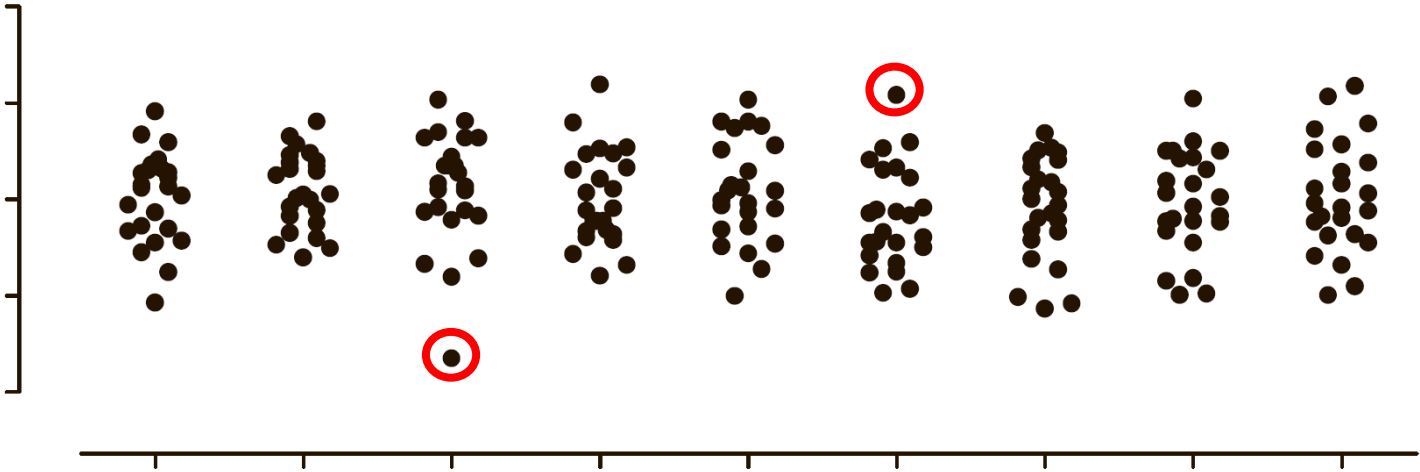
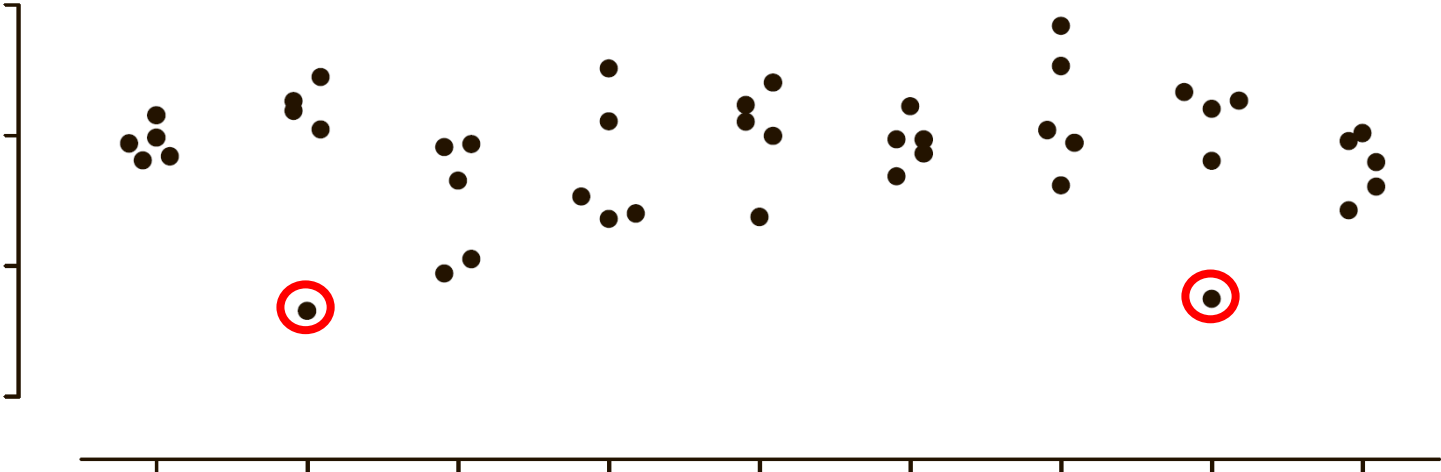


Три разных значения термина «выброс»

- Значение параметра в выборке, которое кажется далеко отстоящим от всех остальных
- Значение параметра в выборке, тестирование которого показывает, что оно является выбросом
- Значение параметра в выборке, которое было расценено как выброс и исключено из анализа



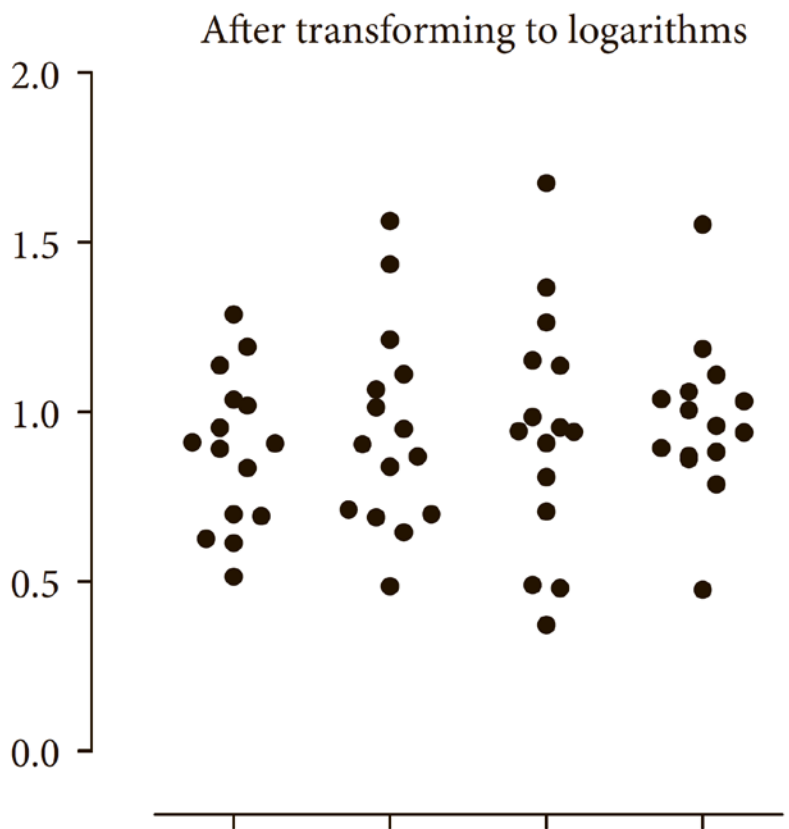
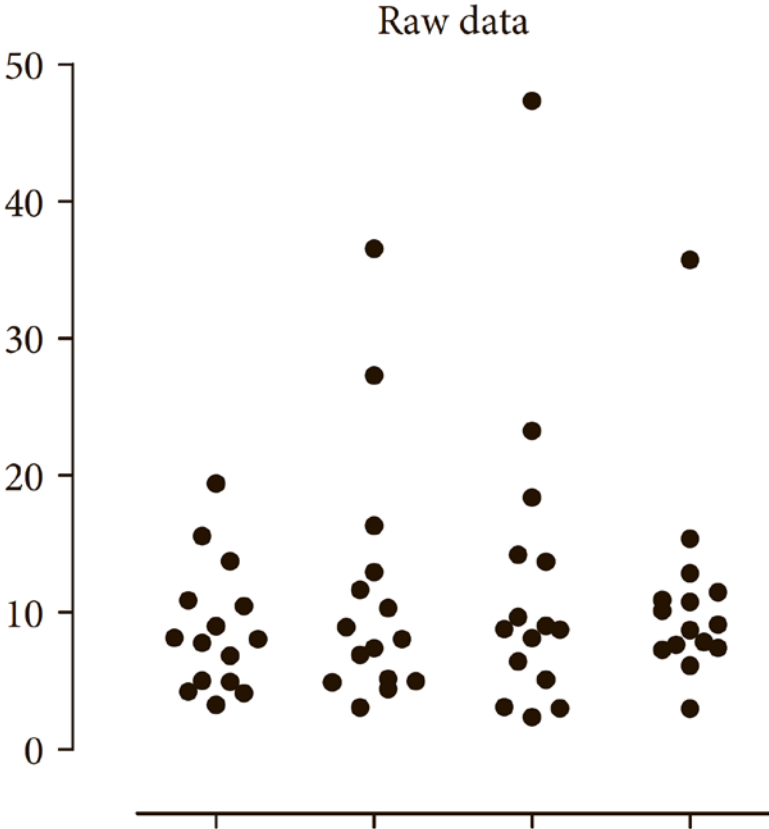
Есть ли здесь выбросы ?



Пять вопросов, на которые нужно ответить «нет» перед тем, как детектировать выбросы

- Не было ли ошибки при вводе данных ?
- Не является ли выброс кодом отсутствующего значения ?
- Не было ли проблемы в этом конкретном эксперименте ?
- Может ли выброс быть реальным биологическим проявлением ?
- Возможно, это ненормальное распределение ?

Есть ли здесь выбросы ?



Пять ошибок при работе с выбросами

- Попытка найти выбросы и удалить их из выборки, подчиняющейся **ненормальному распределению**
- **Неиспользование методов робастной статистики** для обработки данных с выбросами
- **Последовательное тестирование и исключение выбросов** (обычно он один, но если несколько, нужны специальные тесты)
- Исключение выбросов только в том случае, когда **результат не соответствует ожидаемому**
- **Полное удаление информации** о выбросах, в т. ч. из первичных данных

Заключение

Кто?

Руководитель исследования

Когда?

Всегда до начала исследования

Какие?

Разные (см. выше)

Зачем?

Для повышения внутренней валидности и воспроизводимости, а следовательно, для соблюдения 3R

Как?

Опираясь на имеющиеся знания, опыт и здравый смысл