

<https://doi.org/10.47183/mes.2026-503>

УДК 615.038.8:615.03



МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ДИЗАЙНАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ: ОБЗОР

О.В. Шредер[✉], Д.М. Ивашова

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия

Введение. Современное развитие молекулярной биологии и компьютерных наук обуславливает необходимость пересмотра методологии доклинических исследований. Программа Tox21 обеспечивает интеграцию традиционных подходов с инновациями, что позволяет создавать новые стратегии исследования лекарственных средств и трансформировать токсикологию в прогностическую науку. Для разработки безопасных лекарственных препаратов с помощью моделирования требуется стандартизация экспериментальных и статистических подходов с учетом особенностей целевых популяций.

Цель. Систематизация методологических подходов к статистическому и экспериментальному унифицированному планированию доклинических исследований лекарственных средств.

Обсуждение. Анализ рассмотренных подходов показывает, что методологическая строгость на доклиническом этапе является критическим фактором успешного внедрения лекарственных средств в клинику. В работе обоснована четкая иерархия исследовательских дизайнов: от поисковых и пилотных эмпирических схем, предназначенных для генерации гипотез, до трансляционных и опорных исследований, направленных на их подтверждение. Установлено, что ключевым результатом корректного статистического планирования является обеспечение внутренней и внешней валидности получаемых данных. В частности, показано, что в пилотных исследованиях приоритет отдается точечным оценкам и описательным статистикам, тогда как в подтверждающих (опорных) дизайнах критически важны априорный расчет мощности, рандомизация и ослепление. Представленная в работе классификация экспериментальных единиц («отдельное животное», «гнездовая выборка», «повторные наблюдения») напрямую определяет достоверность статистических выводов и минимизацию риска псевдорепликации. Унификация статистических планов трансляционных доклинических испытаний по аналогии с клиническими исследованиями является результирующей стратегией, обеспечивающей надежность прогнозов безопасности и эффективности фармакологически активных соединений перед началом их изучения на человеке.

Выводы. Унификация статистических и экспериментальных планов на доклиническом этапе — необходимое условие получения надежных данных о безопасности и эффективности лекарственных средств. Соблюдение единых методологических принципов в поисковых, трансляционных и опорных исследованиях обеспечивает преемственность результатов и снижает риск ошибочных прогнозов при экстраполяции на человека. Представленные подходы могут служить методической основой для гармонизации доклинических и клинических стратегий в медицинской и ветеринарной фармакологии.

Ключевые слова: опорные исследования; трансляционные исследования; поисковые исследования; доклинические исследования; статистические планы; дизайн эксперимента; экспериментальная единица; валидность; воспроизводимость

Для цитирования: Шредер О.В., Ивашова Д.М. Методологические аспекты в дизайнах доклинических исследований лекарственных средств: обзор. *Экстремальная биомедицина*. 2026. <https://doi.org/10.47183/mes.2026-503>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00061-26-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Использование инструментов ИИ. Авторы подтверждают, что при подготовке рукописи не использовались инструменты искусственного интеллекта.

✉ Шредер Ольга Васильевна olga_shreder@list.ru

Статья поступила: 06.04.2026 **После доработки:** 15.06.2026 **Принята к публикации:** 02.07.2026 **Online first:** 05.10.2026

METHODOLOGICAL ASPECTS OF STUDY DESIGN IN PRECLINICAL DRUG DEVELOPMENT: A REVIEW

Olga V. Shreder[✉], Dinara M. Ivashova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia

Introduction. Recent advances in molecular biology and computational science necessitate a revision of preclinical methodologies. Initiatives such as Tox21 program integrate traditional approaches with innovations, enabling new drug research strategies and transforming toxicology into a predictive science. However, the development of safe drugs through modeling requires the standardization of experimental and statistical approaches, while accounting for the characteristics of target populations.

Objective. To systematize methodological approaches toward unified statistical and experimental planning of preclinical drug studies.

Discussion. Analysis of the reviewed approaches shows that methodological rigor at the preclinical stage is a critical factor in the successful introduction of drugs into clinical practice. This paper proposes a tiered framework of study designs: ranging from exploratory and pilot studies that generate hypotheses to rigorous translational and pivotal trials intended for confirmation. Robust statistical planning is essential for ensuring both internal and external validity, thereby enhancing the reliability and translatability of research findings. Pilot and exploratory studies focus on effect size estimation and descriptive statistics, whereas confirmatory (pivotal) trials require rigorous a priori power analysis alongside strict randomization and blinding protocols. The presented classification of experimental units — whether single subjects, littermates, or repeated measures — is critical for ensuring statistical validity and preventing pseudoreplication. Unifying statistical designs for

© О.В. Шредер, Д.М. Ивашова, 2026

translational preclinical trials by analogy with clinical studies is the definitive strategy for ensuring reliable safety and efficacy predictions for pharmacologically active compounds prior to human trials.

Conclusions. The unification of statistical and experimental plans at the preclinical stage is necessary for obtaining reliable data on drug safety and efficacy. Adherence to unified methodological principles in exploratory, translational, and pivotal studies ensures data continuity and reduces the risk of erroneous predictions when extrapolating findings to human populations. The presented approaches can serve as a methodological basis for harmonizing preclinical and clinical strategies in medical and veterinary pharmacology.

Keywords: pivotal studies; translational studies; exploratory studies; preclinical studies; statistical designs; experimental design; experimental unit; validity; reproducibility

For citation: Shreder O.V., Ivashova D.M. Methodological aspects of study design in preclinical drug development: A review. *Extreme Medicine*. 2026. <https://doi.org/10.47183/mes.2026-503>

Funding. This work was carried out within the framework of the State Assignment of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (NCEMP), No. 056-00061-26-00, for applied scientific research (State Research Registration No. 124022300127-0).

Potential conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

AI tools use. The authors declare no AI (artificial intelligence) tools were used in the preparation of this article.

✉ Olga V. Shreder olga_shreder@list.ru

Received: 6 Apr 2026 **Revised:** 15 June 2026 **Accepted:** 2 July 2026 **Online first:** 5 Oct. 2026

ВВЕДЕНИЕ

Стремительное развитие молекулярной биологии и информационных технологий привело к необходимости переосмыслить методологические подходы, применяемые в доклинической токсикологии¹. Программа Tox21, развивающаяся в рамках концепции «21st Century Toxicology», интегрирует традиционные методологические подходы с технологическими инновациями для формирования новых стратегий исследования лекарственных средств (ЛС) [1]. Ключевым компонентом программы стала общедоступная библиотека данных о 10 000 химических соединениях с разнообразными структурами. Ее создание позволило проводить высокопроизводительный скрининг токсичности новых веществ и выявлять побочные эффекты уже применяемых ЛС. Указанный подход, основанный на внедрении вычислительных технологий и альтернативных методов исследования, позволяет дополнить традиционные экспериментальные модели *in vitro* и *in vivo*, расширяя прогностические возможности токсикологии как науки. Новая концепция основана на комплексном анализе биологических данных, раскрывающих механизмы воздействия на молекулярные мишени, с использованием методов симуляции и вычислительного моделирования². В перспективе переход к прогностической токсикологии, основанной на математическом моделировании, позволит программе доклинической

разработки ЛС занять лидирующие позиции в предоставлении и интерпретации научных данных, необходимых для принятия обоснованных решений в области общественного здравоохранения [1, 2].

Разработка эффективных и безопасных ЛС с опорой на математическое моделирование требует стандартизации исследовательских подходов под конкретные дизайны, цели и задачи, а также учета характеристик целевых популяций пациентов, для которых разрабатывается медицинский продукт. Эти положения относятся не только к разработке продуктов для медицинского применения, но и актуальны для исследования ЛС, предназначенных для ветеринарного применения³.

Для обеспечения качества таких исследований важно учитывать как регламентирующие документы⁴, описывающие принципы и требования, так и целевые протоколы планирования, которые должны создаваться разработчиками в каждом конкретном исследовательском проекте для пошаговой реализации разработки ЛС. Такие документы должны соответствовать международным стандартам, в первую очередь — стандартам планирования экспериментов, направленным на получение результатов, пригодных для статистического анализа. Это требование является основой дизайна не только вычислительных экспериментов (компьютерное моделирование), но и классических экспериментальных исследований с участием лабораторных животных [1, 2].

¹ Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202. «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств; ГОСТ Р 57689-2017. Лекарственные средства для медицинского применения. Выявление токсического действия на репродуктивную функцию и мужскую репродуктивную функцию; ICH M3(R2) Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals, 2020 (дата обращения 04.10.2021).

² ICH M15 Guideline on general principles for model-informed drug development. 20 Nov. 2024, EMA/CHMP/ICH/496426/2024 Committee for Human Medicinal Products; Considerations with respect to future MIDD related guidelines: output from ICH model-informed drug development (MIDD) discussion group (DG) 2021. Members of ICH MIDD Discussion Group January 2021 to March 2022.

³ Приказ Минсельхоза от 6.03.2018 № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения», в редакции от 5.06.2020 № 309.

⁴ Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202. «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств; ГОСТ Р 57689-2017. Лекарственные средства для медицинского применения. Выявление токсического действия на репродуктивную функцию и мужскую репродуктивную функцию; ICH M3(R2) Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals, 2020 (дата обращения: 4.10.2021); Приказ Минсельхоза от 6.03.2018 № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения», в редакции от 5.06.2020 № 309.

Учитывая вышесказанное, для успешной разработки ЛС целесообразно, помимо статистических аспектов, рассмотреть ключевые элементы организации и планирования экспериментов на животных моделях⁵, что включает в себя учет многозадачности доклинических исследований (ДКИ), материально-технические возможности для выбора и практической реализации, а также соответствующие статистические дизайны для целевых экспериментов в рамках серии взаимодополняющих токсикологических исследований на лабораторных животных [2–6].

Целью работы является систематизация методологических подходов к статистическому и экспериментальному унифицированному планированию доклинических исследований лекарственных средств.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Этап доклинической разработки ЛС подразделяется на два основных типа исследований: поисковые, направленные на выявление, разработку и изучение новых ЛС, и опорные, проводимые *in vivo* и *in vitro* с целью оценки безопасности и эффективности ЛС или другого медицинского продукта перед началом клинических испытаний на людях [7]. Такая классификация обусловлена различиями в целях и задачах, а также их ролью в общей стратегии разработки ЛС.

В ходе поисковых ДКИ осуществляется выявление и изучение первичных фармакологических эффектов оригинальных молекул, а также определение оптимальных уровней доз и способов введения. Опорные ДКИ направлены на подтверждение допустимых токсикологических характеристик, потенциальных терапевтических эффектов и нежелательных реакций, определяющих риск для медицинского применения. В рамках первичного изучения и подтверждения эффектов активных фармацевтических субстанций ДКИ обеспечивают выявление механизмов действия ЛС, что углубляет понимание их взаимодействия с биологическими системами и расширяет возможности их медицинского или ветеринарного применения [6, 7]. Для корректной интерпретации, сопоставимости и экстраполяции результатов исследования используются стандартизированные статистические методики⁶.

Современный подход к качеству данных определяется принципами доказательной медицины, которая базируется на статистических методах оценки и прогнозирования [8–11]. Статистические аспекты научной разработки охватывают обработку и интерпретацию полученной информации для выявления закономерностей и взаимосвязей между вмешательством (терапией, экспериментальными условиями) и результатом. Эти вопросы важны на всех этапах разработки ЛС. Препарат проходит исследование на различных экспериментальных платформах: компьютерное моделирование (*in silico*), эксперименты на клеточных культурах (*in vitro*) и испытания на животных (*in vivo*) [12–15].

Важно отметить, что процесс принятия решений о целесообразности разработки ЛС осуществляется на основе результатов первичных оценок токсичности, эффективности и безопасности новых синтезированных химических соединений. Этот процесс предполагает использование той или иной схемы статистического исследования, выбор которой определяется дизайном эксперимента.

В работе представлен обзор основных статистических принципов и схем, применяемых при планировании экспериментов на доклиническом этапе разработки ЛС, включая поисковые, опорные и трансляционные исследования.

Поисковые исследования в доклинической разработке оригинальных лекарственных средств

Поисковые исследования — начальный этап разработки, на котором формулируются гипотезы и цели изучения нового ЛС [16], а основная задача заключается в выявлении перспективных соединений-кандидатов для дальнейшего анализа. В таких исследованиях используют высокопроизводительный скрининг (компьютеризированный роботизированный скрининг для анализа библиотек соединений, геномов, белков и пептидов), молекулярное моделирование (подход, применяющий вычислительные методы для создания, анализа и визуализации трехмерных молекулярных структур, дающий возможность изучать свойства молекул и прогнозировать их поведение в различных условиях), анализ биологических мишеней (мониторинг в организме молекул, взаимодействующих с ЛС или другими биологически активными веществами и вызывающих определенные биологические эффекты), что позволяет оценить активность, селективность и потенциальную токсичность соединений. При этом используются методы *in vitro*, *in vivo* и *in silico*, а также исследование фармакокинетики и фармакодинамики кандидатов в ЛС [2, 12].

После выявления лучших кандидатов проводится оптимизация их физико-химических свойств (растворимость, стабильность, биодоступность) для повышения эффективности и снижения побочных эффектов, с последующей оценкой безопасности и эффективности в рамках опорных ДКИ и клинических испытаний ЛС для подтверждения возможности их медицинского или ветеринарного применения [2–4, 17].

В целом поисковые ДКИ направлены на выявление перспективных кандидатов для клинических исследований. Их выбор часто основан на научных данных, полученных в экспериментальных исследованиях, их обобщениях, общих теориях и т.д., которые не всегда включаются в регистрационное досье. Поисковые ДКИ критически важны для выбора наиболее перспективных кандидатных соединений и их дальнейшей разработки в рамках пилотных эмпирических, трансляционных и опорных исследований [7, 18, 19].

⁵ Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP) в отношении ЛППТ. PharmAdvisor, версия перевода от 10.01.2021. URL: <https://pharmadvisor.ru/document/tr3899/> (дата обращения: 26.01.2017).

⁶ ICH Harmonised tripartite guideline. Statistical principles for clinical trials E9, 1998; Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; Рекомендации Коллегии ЕЭК от 3.11.2020 № 19 «О Руководстве по применению принципов биостатистики в клинических исследованиях лекарственных препаратов».

Пилотные исследования в доклинической разработке оригинальных лекарственных средств

Пилотные исследования традиционно классифицируются по трем основным типам⁷: операционные (процедурные), эмпирические (разведывательные) и трансляционные (научные для переноса данных) [16, 20].

Выбор типа пилотного исследования зависит от:

- возможности реализации: оценивается на этапе планирования операционного пилотного исследования (материально-техническое обеспечение, оптимизация процессов); возможно проведение без участия животных;
- эффективности подхода: определяется в ходе эмпирического разведывательного эксперимента (соответствие результатов задачам);
- перспектив внедрения: оценивается в трансляционном исследовании (обобщаемостью результатов, надежностью, воспроизводимостью, воспроизведением в разных моделях/условиях); подтверждает концепцию (гипотезу) по итогам эмпирических пилотных исследований.

Важными принципами планирования для всех типов пилотных исследований являются:

- принципы 3R (замена (replacement), сокращение (reduction), улучшение (refinement), которые требуют обоснования использования животных в экспериментах и рассмотрения альтернатив, таких как *in vitro*-исследования и систематические обзоры;
- определение цели и пользы обеспечивает получение значимой информации для планирования масштабных исследований; при этом важно четко определить, какую информацию планируется получить и как она будет использована;
- моделирование: необходимо применять максимально релевантные экспериментальные модели животных и болезней для достижения высокой информативности результатов;
- инвестиции в пилотные проекты не должны превышать 20% от общего объема ресурсов, запланированных для основного исследования;
- обоснование пилотных испытаний. Пилотные испытания играют ключевую роль в биомедицинских исследованиях: помогают выявить проблемы и снизить риски, экономя время и ресурсы [7, 21–23].

Поставленные задачи и цели влияют на стратегию выполнения исследования, включая итеративный подход (процесс решения задачи путем последовательного повторения шагов с небольшими улучшениями на каждом этапе) или проведение отдельных пилотных исследований для каждой цели [20]. Для более полного понимания стратегии разработки новых ЛС необходимо четко определить ключевые различия в дизайне пилотных разведывательных и трансляционных ДКИ [24, 25].

Характер статистического дизайна исследования определяется его целевой направленностью. Выделяют гипотезо-генерирующие (эмпирические или разведывательные) и гипотезо-проверяющие

исследования. К последним относятся трансляционные исследования, направленные на перенос полученных данных, и опорные (подтверждающие) испытания. Гипотезо-генерирующие представляют собой научно (теоретически) обоснованные исследования, на основе которых можно строить проверяемые гипотезы относительно патофизиологии заболевания и потенциальных мишеней ЛС [25].

Для оценки значимости выдвинутых гипотез и обоснования дальнейшего клинического изучения терапевтических мишеней требуется применение стандартизованных требований (регламентирующих выбор числа, условий и порядка реализации экспериментов, необходимых и достаточных для решения поставленной задачи с требуемой точностью) и статистических методов при разработке исследовательских дизайнов. Эти дизайны должны включать: протокол, соответствующий типу исследования, с подробным описанием техники и правил проведения экспериментов; методы статистического анализа, обеспечивающие проверку гипотез; порядок представления результатов, подтверждающих выдвинутые гипотезы [26–28].

Для получения надежных и достоверных результатов исследований на животных моделях необходимо обеспечить воспроизводимость эффектов вмешательства. Это требует проведения исследований с максимальной строгостью и прозрачностью, соблюдая стандарты техники и порядок выполнения процедур на каждом этапе [16, 20]:

1. Разработка гипотезы: формулировка конкретного проверяемого предположения, основанного на научных знаниях.
2. Выбор методики и группы сравнения: определение протокола проведения эксперимента, подхода к анализу и сопоставлению данных.
3. Проведение эксперимента: обеспечение идентичных условий содержания и манипуляций для всех групп, за исключением изучаемого вмешательства (принцип единственного различия).
4. Сбор и анализ информации: регистрация и статистическая обработка полученных данных.
5. Интерпретация результатов: выводы на основе анализа данных и проверки гипотезы.
6. Документация результатов: четкое и подробное описание результатов для дальнейшего использования.

Качество пилотных данных, определяющее достоверность исследования, напрямую связано с его внутренней валидностью (подтверждением, что наблюдаемый эффект вызван влиянием изучаемого фактора; обеспечивает точность измерения эффекта и минимизацию ошибок) и внешней валидностью (подтверждением возможности обобщаемости результатов). Внутренняя валидность оценивает риск случайных или систематических ошибок, внешняя — репрезентативность (отражает ключевые характеристики моделируемого состояния, т.е. достоверность модели) и надежность (согласованность результатов в разных моделях и условиях) результатов для более широкой популяции [20, 24]. Предвзятость (смещение) снижает

⁷ Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202. «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Приказ Минсельхоза от 06.03.2018 № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения», в редакции от 05.06.2020 № 309.

обе валидности, однако отсутствие предвзятости не гарантирует внешнюю валидность, если выборка нерепрезентативна (табл. 1).

Даже при высокой внутренней валидности выводы могут быть недостоверны для широкой популяции из-за нерепрезентативной модели или клинической незначимости. Осторожное применение *p*-значений допустимо лишь в крупных, повторных, клинически ориентированных пилотных исследованиях. Для надежных выводов важны внутренняя и внешняя валидность, а также минимизация предвзятости.

Пилотные разведывательные исследования

Разведывательные пилотные исследования направлены на оценку осуществимости и предоставление описательной информации, а не на проверку гипотез. Размер выборки животных не регламентирован, но должен быть минимальным при требуемой информативности. Для серии разведывательных экспериментов в рамках пилотных исследований рекомендуется использовать выборку из 3 (*in vitro*) и 6 (*in vivo*) животных на группу [25, 29–31]. При статистическом анализе рекомендуется сосредоточиться на описании результатов с применением точечных оценок, частот и интервалов (минимальных и максимальных значений), которые отражают диапазон наблюдаемых эффектов изучаемого ЛС. Расчет доверительных интервалов и проверка статистических гипотез на данном этапе не проводятся ввиду малого объема выборок и отсутствия цели подтверждения эффективности. На этом этапе моделирование и анализ чувствительности играют важную роль в оценке неопределенностей, связанных с прогнозируемым размером выборки [11, 32]. Разведывательные исследования нужны для анализа лучших и худших сценариев статистических моделей, различных сопутствующих переменных (числовых характеристик, связанных с изучаемым

процессом) и методов анализа, запланированных для основного исследования. Ключевым элементом дизайна разведывательного эксперимента являются четко определенные критерии, по которым оценивается его успешность и потенциал для дальнейшего применения [11, 20–26].

Пилотные эмпирические и трансляционные исследования

Эмпирические и трансляционные исследования служат для предварительной оценки эффективности и потенциала переноса результатов. Они предоставляют сведения о целесообразности дальнейших экспериментов, при этом размер выборки оптимизируется с учетом информационной мощности (максимальный объем полезных данных, получаемых в эксперименте при минимальном числе животных) исследования [7, 11, 16].

Эмпирические исследования демонстрируют потенциальную эффективность в оптимальных условиях (проведение эксперимента со всеми испытуемыми, находящимися в одинаковых условиях, с оценкой правильности формулирования проблемы и гипотезы, адекватности методов исследования, правильности выбора испытуемых, адекватности математических методов анализа)⁸ [32]. Оценка эффективности основывается на качестве переменных результатов (ответов), которые для корректной оценки должны соответствовать следующим критериям:

- значимости эффекта — величине наблюдаемого эффекта, достаточно выраженной для надежного измерения;
- точности и прецизионности, обеспечивающих стабильность и воспроизводимость при повторных измерениях;
- релевантности — соответствию прогнозам, сформулированным в гипотезе исследования [10, 14].

Таблица 1. Причины возникновения и методы минимизации предвзятости (систематической ошибки)

Причина возникновения предвзятости	Метод минимизации предвзятости	Пояснение к применению в исследовании
Некорректный отбор животных для экспериментальных исследований	Использование адекватных контрольных групп или компараторов	Обеспечивает сопоставимость групп по исходным характеристикам
Неправильное распределение вмешательств в группах экспериментальных животных	Использование процедуры рандомизации	Исключает систематическое смещение при распределении животных по группам вмешательства
Нарушение порядка выполнения процедур с животными	Слепой метод (скрытие распределения вмешательств)	Предотвращает влияние исследователя на результат процедур
Ошибки в измерении и оценке результатов	Четкие критерии включения и исключения экспериментальных животных в исследование	Стандартизация оценки, снижение вариабельности
Исключение животных в процессе эксперимента и потеря данных	Четко сформулированные показатели результатов (первичные/вторичные)	Позволяет объективно анализировать исключенные данные, не внося смещения

Таблица составлена авторами по данным источников [20, 24]

⁸ Титова АА, Билялов АИ, Киясов АП, Титова МА. Уч.-мет. пособие «Лабораторные животные для научных исследований». Казань: Казан. ун-т; 2021.

Основная цель эмпирического исследования — получить наиболее полную информацию из данных [7, 16]. Эксперименты следует проводить в контролируемых условиях, не стремясь к созданию клинически значимой модели на этом этапе. Для обеспечения надежности и достоверности эмпирического исследования, проводимого в контролируемых условиях, необходимо обеспечить однородность групп (выборки должны быть максимально однотипными для исключения влияния иных факторов на ход и результаты эксперимента), контролировать все факторы, кроме независимой переменной, чтобы точно определить ее влияние на логику и выводы исследования, а также повторять эксперимент несколько раз для проверки надежности и воспроизводимости результатов. Этот подход обеспечивает дополнительную проверку полученных данных и подтверждает их корректность.

Следует учитывать, что исследования, проводимые на начальной стадии проекта на животных, носят поисковый характер и выполняются на малом количестве животных. Размер выборки на этом этапе определяется потребностью в получении адекватной информации для последующего анализа, а не задачей достижения статистической значимости.

Трансляционные исследования представляют собой современную научную модель, направленную на внедрение результатов фундаментальных исследований в практические медицинские технологии

и методы лечения [7, 16, 20]. Они включают эксперименты *in silico* (компьютерное моделирование), *in vitro* (в пробирке), *ex vivo* (на клеточных культурах) и *in vivo* (на животных). Конечная цель — трансформировать научные достижения в практические медицинские решения, которые будут использоваться в клинической практике [1, 31]. Процесс включает последовательный переход от фундаментальных и механистических исследований к клинически значимым моделям животных, основанным на прогнозируемой вероятности (Predicted Probability of Prediction, pPoP; оценка, генерируемая статистическими моделями, указывающими вероятность конкретного исхода на основе переменных-предикторов в диапазоне от 0 до 1, где 1 — полная уверенность, 0,5 — случайное угадывание). Исследования, подтверждающие концепцию доклинического доказательства (Proof of Concept, pPoC; демонстрирующего, что изучаемое вещество или метод обладают заявленным биологическим действием), то есть оценка эффекта вмешательства на клинически значимых животных моделях с использованием параметров, связанных с конкретным заболеванием. Далее следует переход к ранним фазам клинических исследований, подтверждающим концепцию клинического доказательства (Proof of Concept, cPoC; данные по эффективности и безопасности нового ЛС или терапии в отношении небольшой группы пациентов) и, в конечном итоге, к рандомизированным клиническим исследованиям (табл. 2) [16].

Таблица 2. Определение принципов доказательства концепций в доклинических и клинических исследованиях

Критерий	Прогнозируемая вероятность (pPoP)	Доклиническое доказательство концепции (pPoC)	Клиническое доказательство концепции (cPoC)
Описание	Оценка, генерируемая статистическими моделями, указывающая вероятность конкретного исхода на основе переменных-предикторов. Подтверждает влияние на целевой патофизиологический механизм или процесс заболевания	Исследования, подтверждающие наличие у изучаемого вещества или метода заявленных биологических свойств на релевантных доклинических моделях животных, соответствующих заболеванию	Исследования ранней фазы, подтверждающие эффективность и безопасность нового лекарственного средства или метода терапии на небольшой группе пациентов
Роль (функции)	Количественная оценка уверенности в прогнозируемом исходе. Различение положительного и отрицательного классов в бинарной классификации. Результаты представлены суррогатными показателями, отражающими процесс заболевания	Подтверждение возможности достижения желаемого эффекта перед началом масштабных и затратных исследований. Получение результатов, имеющих прямую связь с клиническим проявлением заболевания	Проверка гипотезы о клинической применимости. Демонстрация перспективности медицинского продукта. Принятие решения о целесообразности проведения масштабных испытаний (Фаза III) и формирование их дизайна
Пример	Эффективность нового противоопухолевого препарата оценивается по суррогатным биомаркерам клеточной пролиферации и апоптоза	Эффективность нового противоопухолевого препарата оценивается по регрессии опухоли на мышинных моделях ксенотрансплантатов, полученных от пациентов	Эффективность и безопасность нового препарата подтверждается в рандомизированном исследовании на небольшой выборке пациентов

Таблица составлена авторами по данным источника [16]

В трансляционных исследованиях прогностическая точность важна для оценки клинической значимости и возможности экстраполяции результатов с животной модели на человека. Поэтому репрезентативность животной модели оценивается по трем основным критериям [20, 24, 25, 31]: сходство фенотипа или филогенетическое сходство; гомологичность конструкции — подтверждение конструктивной валидности (дизайн эксперимента, физиологические и патофизиологические характеристики, путь введения и дозы соединения, условия лечения, биомаркеры моделируемого патологического процесса, исходы (endpoints) доклинических и клинических исследований в контексте методологии и интерпретации результатов); прогностическая точность — способность модели определять вероятность наступления тех или иных клинических исходов.

Критерии внешней валидности часто субъективны, что требует баланса между подходами к подтверждению достоверности. Прогностическая валидность животной модели определяется ее сходством с целевой популяцией и специфичностью терапевтического ответа. Она показывает, насколько результаты, наблюдаемые у животных, воспроизводятся у человека, и определяет клиническую значимость модели заболевания [20, 24, 25]. Максимизация внешней валидности требует компромиссов, в особенности для заболеваний, трудно поддающихся моделированию из-за сложности и вариабельности клинических проявлений. Модель должна быть информативной и предсказуемой для успешного трансляционного применения, даже если полное соответствие модели невозможно [11, 24].

Опорные исследования в доклинической разработке новых лекарственных средств

Опорные исследования направлены на подтверждение безопасности ЛС и получение разрешения на проведение клинических испытаний с участием пациентов. Результаты этих исследований составляют основу регистрационного досье, которое необходимо для старта рандомизированных контролируемых исследований и последующей регистрации нового ЛС.

Для оценки токсичности ЛС в рамках опорных исследований применяются различные дизайны и методы (рис. 1–5). Они отличаются структурой, спецификой определения единиц сбора данных и подходами к их статистическому анализу⁹ [7, 16–19, 32]. К таким дизайнам относятся следующие типы исследований:

- острая токсичность¹⁰: определение токсических реакций после однократного введения ЛС. Единица наблюдения — отдельное животное;
- токсичность при повторном введении (субхроническая и хроническая): оценка реакций организма на многократное введение препарата и выявление

зависимости «доза–эффект». Единица наблюдения — отдельное животное с повторными наблюдениями;

- генотоксичность: оценка повреждений ДНК (*in vitro*, *in vivo*) — прогноз канцерогенности или наследственных нарушений (при анализе эмбриональных клеток). Единица наблюдения — отдельная культура (*in vitro*) или образцы тканей отдельного животного (*in vivo*);
- онтогенетическая и репродуктивная токсичность: оценка влияния ЛС на репродуктивную систему и развитие потомства. Единица наблюдения: группа животных — для оценки влияния на репродуктивную функцию самцов и самок при многократном введении ЛС; кластеры животных (гнездовая выборка) — для оценки эмбриотоксичности;
- канцерогенность: оценка способности препарата вызывать опухоли у животных для прогнозирования риска рака у человека. Единица наблюдения — отдельное животное с повторными наблюдениями.

На рисунке 1 представлена схема качественной и количественной оценки токсических реакций после однократного введения ЛС. В дизайне предусмотрено ступенчатое повышение доз для выявления пороговых и летальных уровней воздействия ЛС. Размер статистических выборок зависит от вида лабораторных животных: для грызунов рекомендуется использовать не менее 5–6 особей разного пола на группу; для не грызунов (например, кроликов, мини-пиггов, собак) — 3–5 особей разного пола на группу. В исследовании необходимо предусмотреть этап адаптации животных — обязательный период содержания животных в виварии перед началом эксперимента для привыкания к условиям, персоналу и режиму, что необходимо для учета групповой и индивидуальной вариабельности ответа.

При оценке общей токсичности в условиях повторных воздействий (рис. 2) дизайн предполагает введение ЛС на двух видах животных (грызуны и не грызуны) с соблюдением статистически обоснованных размеров групп (грызуны — не менее 10 особей разного пола в группе, не грызуны — не менее 6 особей разного пола в группе). Продолжительность исследования определяется целями и условиями эксперимента, к которым относятся: режим дозирования (ежедневно, с интервалами), способ введения (пероральное, внутривенное, внутрибрюшинное и др.), длительность курса, необходимость оценки восстановительного периода и другие параметры. В зависимости от этих факторов периоды наблюдения могут составлять от 2-х недель до 1-го мес. (внутривенное, внутрибрюшинное) либо 3 и 6 мес. (субхронические и хронические исследования) при допустимом способе введения (пероральное). Такой дизайн позволяет выявить дозозависимые

⁹ Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202. «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Приказ Минсельхоза от 6.03.2018 № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения», в редакции от 5.06.2020 № 309; Рекомендации Коллегии ЕЭК от 3.11.2020 № 19 «О Руководстве по применению принципов биостатистики в клинических исследованиях лекарственных препаратов».

¹⁰ OECD (2001) OECD Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity — Acute Toxic Class Method No. 423; OECD (2001) OECD Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity — Fixed Dose Procedure No. 420.

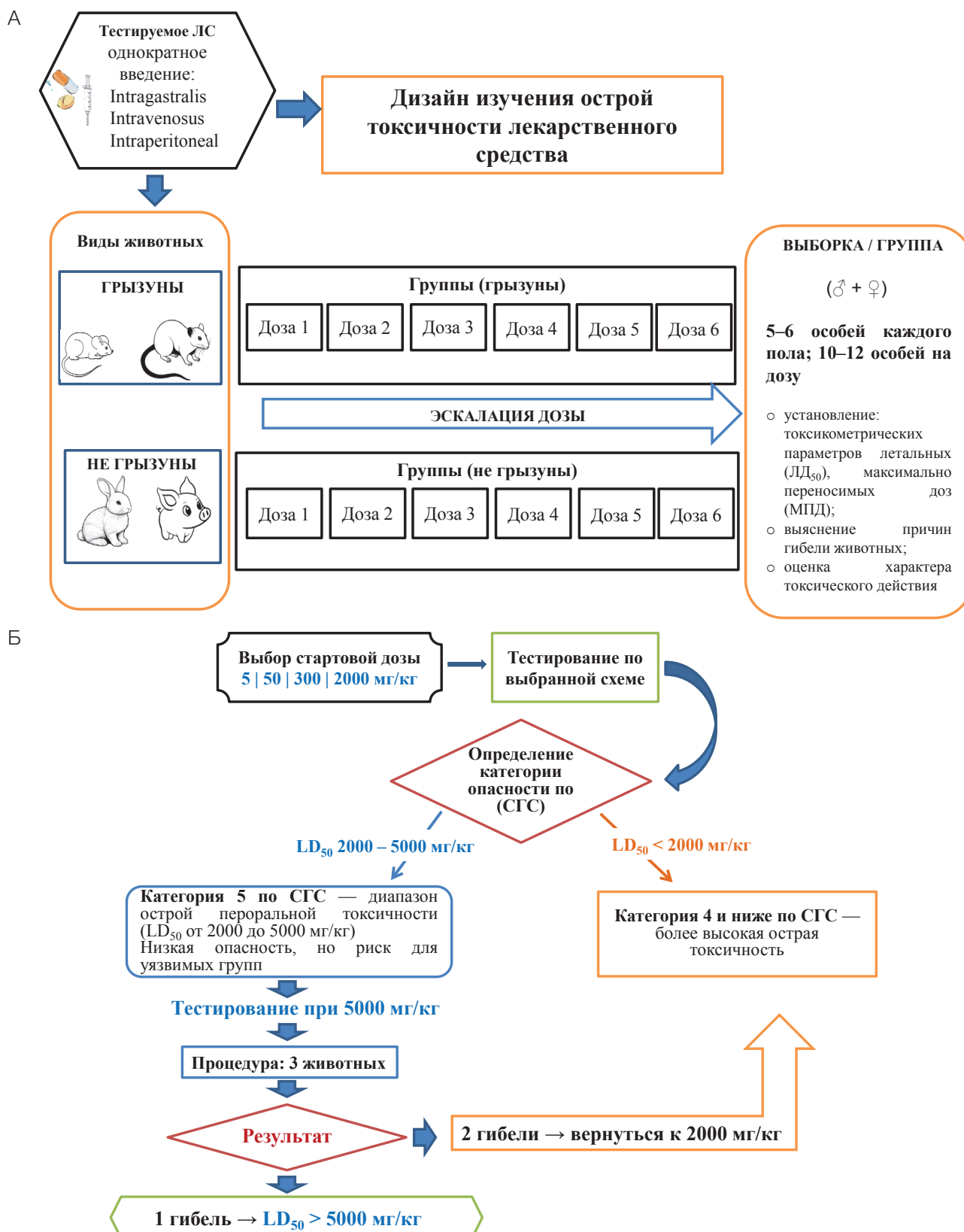


Рисунок подготовлен авторами по данным источника [16]

Рис. 1. Оценка острой токсичности. А — экспериментальные дизайны опорного доклинического исследования, Б — общие принципы выбора уровней доз; *Intragastralis* — внутрижелудочное введение (через зонд); *Intravenous* — внутривенное введение; *Intraperitonealis* — внутрибрюшинное введение; СГС — согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химических веществ на основе пороговых значений LD_{50} : категория 1 (>0–5 мг/кг), категория 2 (>5–50 мг/кг), категория 3 (>50–300 мг/кг), категория 4 (>300–2000 мг/кг), категория 5 (>2000–5000 мг/кг) или неклассифицируемое

токсические эффекты¹¹, включая кумулятивные и отсроченные реакции¹².

При оценке генотоксичности ЛС¹³ предусмотрено использование двух видов животных с размером выборки по 5 особей (для грызунов) и по 3 особи (для не грызунов) на каждый период оценки (2-й и 14-й дни), что обеспечивает статистическую мощность для регистрации ожидаемых генотоксических эффектов (рис. 3). Данный дизайн также применим для пилотной (разведывательной) оценки генотоксичности в соматических и половых клетках самцов и самок, а также в эмбрионах. При этом длительность наблюдения (не менее 14 дней) позволяет выявить риски нарушения развития потомства.

Онтогенетическая и репродуктивная токсичность при многократном введении — это виды токсического действия веществ, которые могут проявляться при повторном воздействии за относительно короткий промежуток времени (рис. 4). Они связаны с нарушениями репродуктивной функции и развитием потомства. Эксперимент включает многократное введение исследуемого вещества с учетом периодов сперматогенеза (у самцов) и оогенеза (у самок) крыс. Для обеспечения статистической мощности исследования количество животных в группе при оценке фертильности должно составлять не менее 10 особей разного пола в каждой группе. Эксперимент предусматривает получение потомства F1 (по 12 особей из 10 пометов) для оценки влияния на репродуктивную функцию и эмбриотоксичность. Такой дизайн позволяет выявить любые (в том числе отсроченные) эффекты ЛС на репродуктивную систему и развитие потомства.

Дизайн исследования канцерогенности включает сравнительный анализ для двух уровней доз (максимально переносимой (MTD) и терапевтической (ED)) в группах контроля и двух экспериментальных с использованием относительно короткого и длительного периодов наблюдения (рис. 5). Временные точки оценки (t_1, t_2, t_3, t_4, t_n) соответствуют последовательным этапам эксперимента (начало введения, промежуточные сроки, окончание введения и период наблюдения). Длительность исследования варьирует: стандартные сроки для анализа на канцерогенность у мелких животных (мыши, крысы, хомяки, кролики) составляют 2 года для хронического введения, а также может достигать 7–10 лет для крупных животных (собаки, приматы) в зависимости от целей и нормативных требований. Выбор доз основывается на результатах предварительных исследований: максимально переносимая доза определяется как наивысшая доза, не вызывающая летальности и значимой токсичности, тогда как терапевтическая доза отражает дозу, вызывающую желаемый фармакологический эффект. Такой дизайн позволяет выявить опухолеобразование, оценить дозозависимость канцерогенного эффекта, соотнести MTD и ED для оценки терапевтического индекса и экстраполировать риски на человека.

Экспериментальная единица является важнейшим элементом любого дизайна исследования. Ее выбор определяет уровень, на котором будут осуществляться наблюдения и проводиться анализ результатов [16–19]. Достоверность, интерпретируемость и применимость полученных данных напрямую зависят от правильности этого выбора.



¹¹ Guidance Document No. 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies, Supporting Test Guidelines 451, 452 and 453. OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment. No. 116. Paris: OECD; 2011. ENV/JM/MONO(2011)47.

¹² Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

¹³ OECD (2016) OECD Guideline for testing of chemicals. In vivo mammalian alkaline comet Assay No. 489.

Б



Рисунок подготовлен авторами по данным источников [16, 35]

Рис. 2. Оценка общей токсичности при многократном введении лекарственного средства. А — экспериментальные дизайны опорных доклинических исследований, Б — общие принципы выбора уровней доз; МПД — максимально переносимая доза; *Intragastralis* — внутрижелудочное введение (через зонд); *Intravenosus* — внутривенное введение; *Intraperitonealis* — внутрибрюшинное введение; NOEL (no observed effect level) — наивысшая доза без каких-либо статистически значимых эффектов; LOEL (lowest observed effect level) — наименьшая доза, вызывающая наблюдаемый эффект; NOAEL (no observed adverse effect level) — доза, не вызывающая видимых нежелательных эффектов; LOAEL (lowest observed adverse effect level) — наименьшая доза, вызывающая наблюдаемый нежелательный эффект; подход бенчмарк-дозы (benchmark dose, BMD) — статистический метод определения токсикологической точки отсчета путем моделирования всей кривой «доза-эффект» и расчета дозы, соответствующей заданному уровню ответа (baseline mortality response, BMR), с последующей оценкой ее нижнего доверительного предела (benchmark dose lower confidence limit, BMDL); BMR — заранее заданное изменение ответа (например, 5 или 10%), используемое для расчета BMD; BMD — доза, соответствующая заданному изменению ответа (BMR) по сравнению с контролем; BMDL — нижняя граница 95% доверительного интервала для BMD (используется как точка отсчета (POD)); POD — доза, с которой начинается экстраполяция на допустимые уровни воздействия для человека (обычно NOAEL или BMDL); ADI (acceptable daily intake) — допустимое суточное количество вещества, которое можно потреблять ежедневно в течение жизни без заметного риска для здоровья; TDI (tolerable daily intake) — допустимое суточное количество вещества-контаминанта, которое можно потреблять ежедневно без вреда; MOE — отношение POD (точки отсчета) к предполагаемому уровню экспозиции человека (маржа экспозиции)

В таблице 3 представлены основные виды экспериментальных единиц, используемых в токсикологических исследованиях, а также их специфическая применимость в различных сценариях оценки воздействия [7, 16]. Эти элементы дизайна формируют основу для принципов сбора и выбора методов статистического анализа экспериментальных данных [32–35].

Отдельное животное как экспериментальная единица

Данный дизайн реализует принцип соответствия экспериментальной единицы отдельному животному, которое одновременно является статистической единицей (табл. 3).

В исследовании могут быть использованы различные виды лабораторных животных (мыши, крысы, кролики, минипиги). Для каждого вида, выбранного для проведения эксперимента, формируются группы из нескольких особей (условно пронумерованных от 1 до 6). Каждое животное после случайного распределения в группу подвергается воздействию изучаемого фактора (доза препарата, контроль) в соответствии с заданным режимом введения и формирует индивидуальный результат, являющийся первичными данными исследования.

Такой подход обеспечивает независимость наблюдений и статистическую мощность, то есть вероятность обнаружить истинный эффект, если он существует. Размер экспериментальных групп (количество

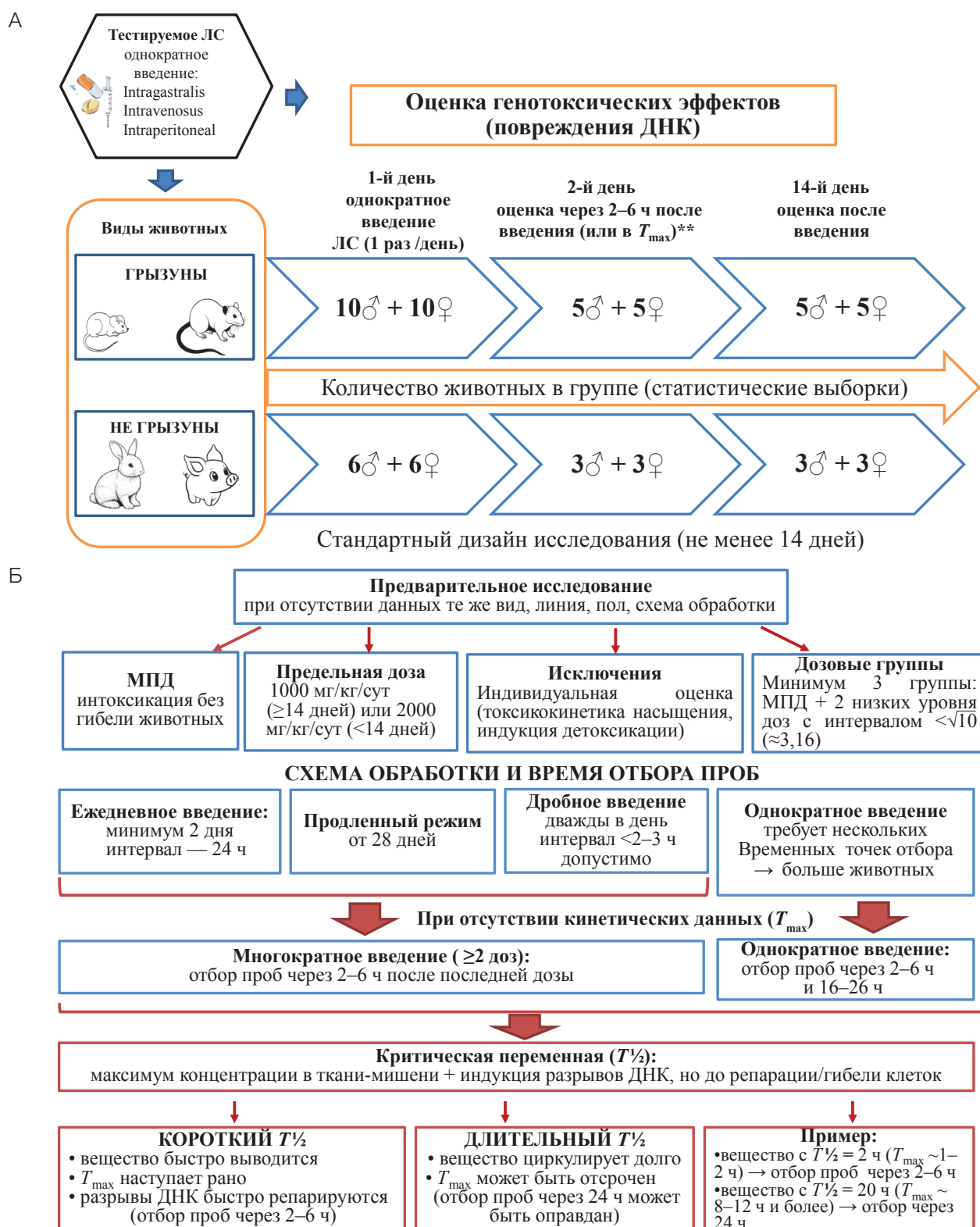


Рисунок подготовлен авторами по данным источника [16]

Рис. 3. Оценка генотоксических эффектов (тест ДНК-комет), в том числе приводящих к нарушению развития потомства при однократном введении лекарственного средства. А — экспериментальные дизайны опорных доклинических исследований, Б — общие принципы выбора уровней доз; *Intragastralis* — внутрижелудочное введение (через зонд); *Intravenosus* — внутривенное введение; *Intraperitonealis* — внутрибрюшинное введение; $T_{1/2}$ — период полувыведения тестируемого вещества; $T_{\max}$ — время достижения максимальной концентрации тестируемого вещества и/или его активных метаболитов в ткани-мишени или плазме (отбор проб рекомендовано проводить именно в $T_{\max}$ или в диапазоне 2–6 ч после введения, если $T_{\max}$ неизвестен), чтобы захватить максимум индуцированных разрывов ДНК до их репарации

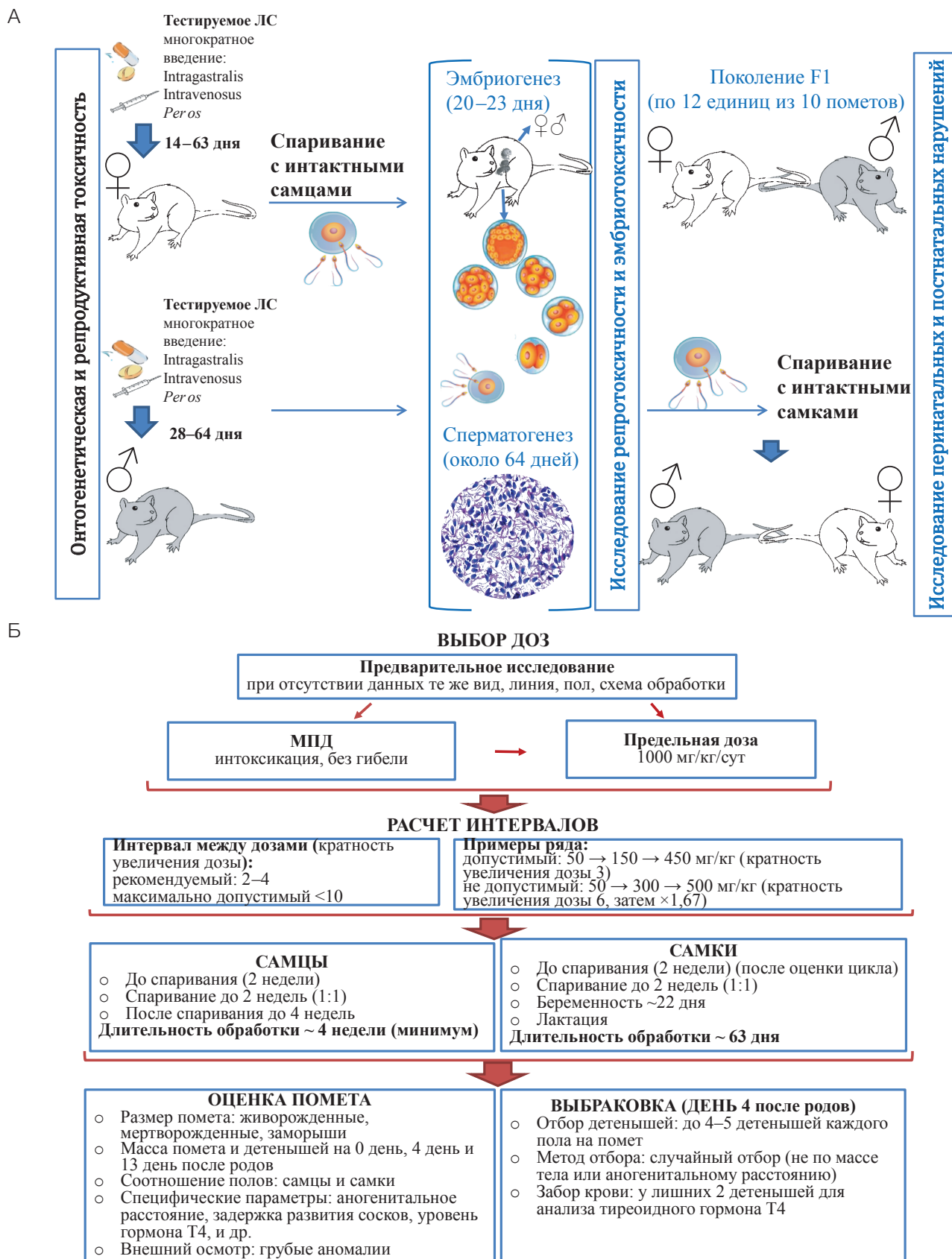
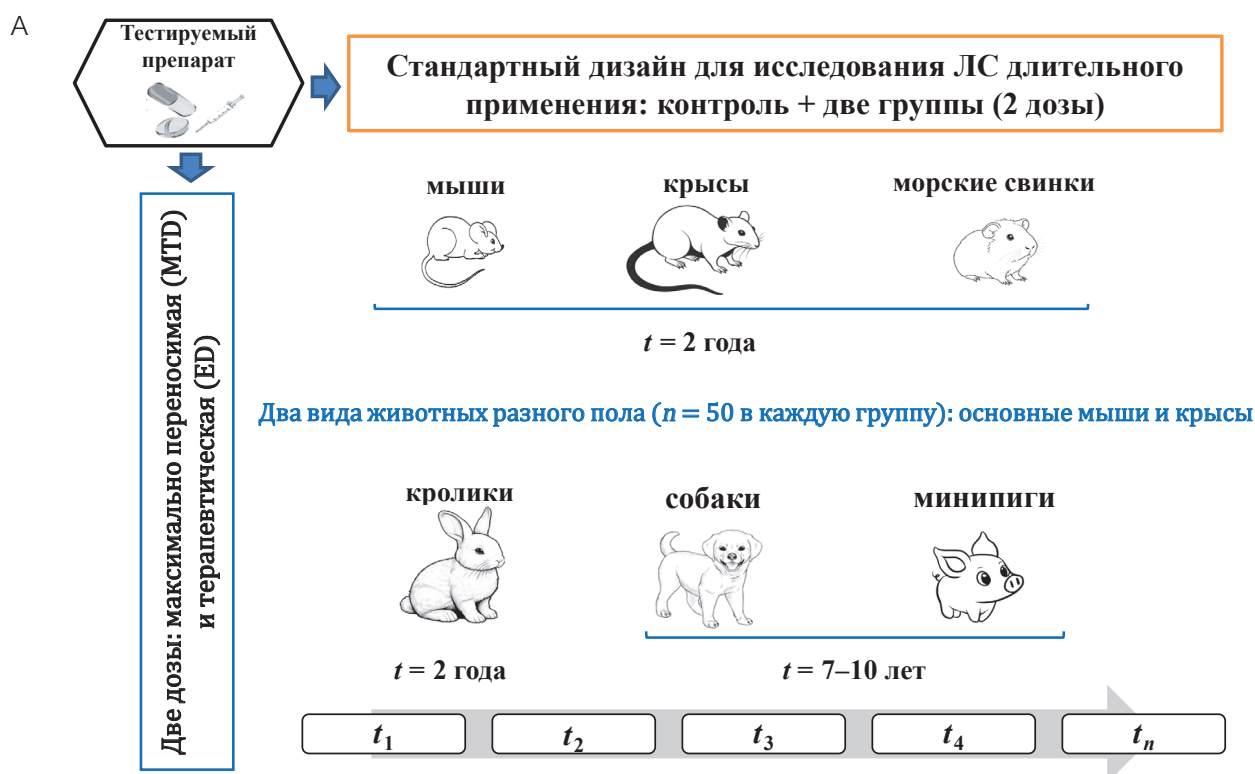


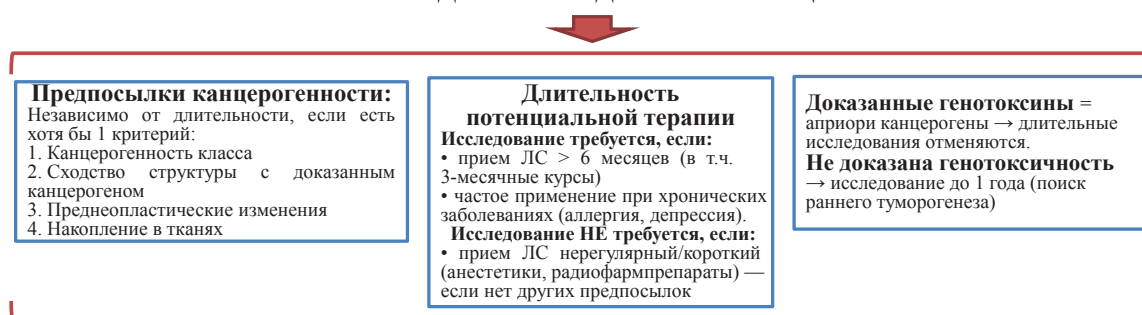
Рисунок подготовлен авторами по данным источника [16]

Рис. 4. Оценка онтогенетической и репродуктивной токсичности ЛС при многократном введении. А — экспериментальные дизайны опорных доклинических исследований, Б — общие принципы выбора уровней доз; МПД — максимально переносимая доза; *Intragastralis* — внутрижелудочное введение (через зонд); *Intravenosus* — внутривенное введение; *per os* — пероральное введение; Т4 — тироксин



Б

КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КАНЦЕРОГЕННОСТИ



КЛЮЧЕВЫЕ КРИТЕРИИ ВЫБОРА ДОЗЫ

1. Максимально переносимая доза (МПД) — традиционный подход на основе 90-дневных исследований токсичности (критерий: минимальная токсичность: снижение массы тела $\leq 10\%$, токсические эффекты на органы-мишени без существенного влияния на выживаемость и интерпретацию результатов)
2. Фармакокинетический подход — основан на сравнении системной экспозиции (AUC) у грызунов и человека:
 - соотношение AUC 25:1 (грызуны : человек для исходного вещества и/или значимых метаболитов).
 - сходный профиль метаболизма у грызунов и человека, хорошая переносимость высоких доз
3. Насыщение всасывания — высокая доза при которой достигается насыщение системной доступности
4. Фармакодинамика конечные точки — доза, вызывающая максимальный ФД ответ (без нарушения физиологии/гомеостаза)
5. МПД — для введения с кормом — не более 5% от рациона
6. Предельная доза (1500 мг/кг/сут):
 - применяется, если максимальная суточная доза для человека ≤ 500 мг/сут;
 - системная экспозиция у грызунов должна на порядок превышать терапевтическую экспозицию (ED_x) у человека

Рисунок подготовлен авторами по данным источника [16]

Рис. 5. Оценка канцерогенности лекарственного средства. А — экспериментальные дизайны опорных доклинических исследований канцерогенности, Б — общие принципы исследования канцерогенности; t — время наблюдения (лет); ED_x (эффе́ктивная доза) — расчетная величина дозы исследуемого вещества, которая при заданном режиме введения вызывает статистически значимый или биологически значимый фармакологический эффект у заранее определенной доли экспериментальных животных ($x\%$), установленный по отношению к контролю

Таблица 3. Методологическая характеристика экспериментальных единиц в доклинических исследованиях

№	Тип экспериментальной единицы	Определение	Условия применения	Принцип соответствия дизайну	Пример реализации
1	Отдельное животное	Одна особь, случайным образом распределенная в группу воздействия	Оценка острой и хронической токсичности; независимое действие вещества	Каждое животное — один источник данных; наблюдения независимы	5–10 грызунов на группу; индивидуальная регистрация массы тела, биохимических показателей крови т.д.
2	Кластер (гнездо, помет)	Группа потомков от одной родительской пары, подвергшейся воздействию	Оценка эмбриотоксичности, репродуктивной токсичности, онтогенетических нарушений	Воздействие — на родителя; анализ — на потомстве; единица — гнездо/помет	10 самок в группе; оценка по 12 особям F1 из 10 пометов; усреднение показателей внутри помета
3	Отдельное животное с повторными измерениями	Одна особь с регистрацией показателей в нескольких временных точках	Оценка хронической токсичности, фармакокинетики, восстановительного периода	Животное служит собственным контролем; измерения не независимы	Грызуны (≥ 10 /группа) и не грызуны (≥ 6 /группа); забор крови на 7, 14, 28, 90 сутки — анализ показателей
4	Часть животного (анатомическая область)	Изолированный участок тела, получающий локальное воздействие	Дермальная токсичность, фототоксичность, местнораздражающее действие	Участки анатомически изолированы; системное действие исключено	Нанесение тестируемого вещества на правый бок и контрольного вещества на левый бок одного животного

Таблица составлена авторами по данным источника [16]

животных в группе) определяется на основе априорного анализа мощности с учетом: ожидаемого размера эффекта, вариабельности показателя, принятых уровней ошибок ($\alpha = 0,05$, $\beta = 0,20$).

Кластер животных (гнездовая выборка) как экспериментальная единица

В данном дизайне экспериментальной (и статистической) единицей является не отдельное животное, а кластер животных — гнездовая выборка (помет, выводок) (табл. 3).

Такой подход применяется в исследованиях репродуктивной и онтогенетической токсичности, где воздействие получает самец и/или самка (родительская пара или один из родителей), а анализ проводят на потомстве (поколение F1).

Внутри каждой экспериментальной группы формируются несколько гнезд, условно пронумерованных от 1 до 6 (по номеру самки). Каждое гнездо служит единой экспериментальной единицей, а отдельные особи из одного гнезда не считаются независимыми статистическими единицами (их данные усредняются или анализируются с учетом кластеризации). Это позволяет корректно оценивать эффекты, связанные с внутригнездовой корреляцией (генетическое сходство, общие условия вынашивания и вскармливания). При анализе учитываются также гендерные типы (пол) особей в потомстве. Размер экспериментальной группы определяется количеством гнезд (кластеров), а не общим числом животных, что критически важно

для расчета статистической мощности и избежания искусственного завышения числа независимых единиц (псевдорепликация).

Повторные наблюдения на одном животном

В данном дизайне экспериментальной (и статистической) единицей является отдельное животное, однако для каждой единицы выполняются повторные измерения в последовательные временные точки (t_1, t_2, t_3, t_4, t_n) (табл. 3). Такой подход применяется в исследованиях, где необходимо оценить динамику показателей во времени, в частности при изучении хронической токсичности, отсроченных эффектов или временной зависимости реакций на воздействие. При этом для каждого животного (условно пронумерованы от 1 до 6) формируется временной ряд измерений. Важно, что статистической единицей остается отдельное животное, а повторные измерения не считаются независимыми единицами: они коррелированы внутри одного животного. Такой дизайн способствует повышению чувствительности исследования (каждое животное служит собственным контролем) и сокращению необходимого количества животных, что соответствует принципам 3R.

Часть животного как экспериментальная единица

В данном дизайне экспериментальной единицей является не целое животное, а отдельная его часть (табл. 3). Такое возможно, когда часть организма животного

подвергается самостоятельному, локальному воздействию, независимому от других частей того же животного: нанесение разных веществ на разные участки кожи одного животного (левая часть спины — контроль, правая часть спины — тестируемое вещество); инъекции в разные конечности. В этом случае каждый обработанный участок (анатомическая область) является независимой экспериментальной единицей, поскольку воздействие на один участок не влияет (или влияет минимально) на другой. Такой дизайн позволяет контролировать межиндивидуальную вариабельность (каждое животное служит собственным контролем) и сокращать общее количество животных. Критическое условие: выбранные участки должны быть достаточно изолированы анатомически, а вещество не должно оказывать системного действия.

Статистический анализ учитывает возможную корреляцию между частями одного животного — применяются модели с повторными измерениями или смешанные модели с животным как случайным фактором.

Объективная оценка безопасности фармакологических эффектов в ДКИ требует не только сбора данных, но и заранее разработанного плана статистического анализа. Этот план должен регламентировать размер выборки, сбор, обработку, анализ и интерпретацию результатов, что позволит выявить закономерности, сделать обоснованные выводы и построить надежные прогнозы [10–12].

Детальное статистическое планирование эксперимента является залогом более полной оценки безопасности и прогнозируемой эффективности тестируемого ЛС. Оно способствует формированию достоверных заключений о пользе и рисках применения ЛС, а также служит основанием для принятия решения о переходе к клиническому этапу исследований.

Статистические подходы в исследованиях лекарственных средств

Статистические аспекты разработки ЛС включают вопросы планирования дизайна и методы анализа результатов исследования. Планирование является основой для получения надежных результатов, а качество доказательств определяет их ценность. Наиболее очевидная и разработанная область применения статистических методов планирования в жизненном цикле ЛС приходится на этап их клинической разработки [7, 9, 16, 28]. Основные статистические планы регистрационных клинических исследований включают краткое изложение дизайна в виде формулировки гипотезы, формулы расчета размера выборки, критериев оценки и методов анализа результатов. Это своего рода «канва» статистического дизайна пред- и регистрационных клинических исследований [33]. Однако успешное планирование клинических исследований невозможно без предварительных данных о фармакодинамике и токсичности ЛС, полученных на животных моделях. Ключевой проблемой здесь является корректная экстраполяция данных на человека. Это связано с тем, что на доклиническом этапе разработки ЛС существуют значительные пробелы, вызванные отсутствием единых подходов к статистическому планированию экспериментов,

что, в свою очередь, приводит к вариативности операционных процедур и методов анализа данных, используемых для решения конкретных исследовательских задач.

В связи с этим практикующие статистики подчеркивают необходимость стандартизации статистических планов, применяемых как в доклинических, так и в клинических исследованиях [7, 16]. Цель такой стандартизации — снижение риска ложных представлений и ошибочных прогнозов относительно безопасности и эффективности ЛС.

Стандартизация статистических подходов особенно важна при планировании трансляционных и опорных ДКИ. Чтобы минимизировать ошибки при экстраполяции данных с животных моделей на человека, статистические планы трансляционных КИ следует адаптировать к структуре дизайнов, аналогичных тем, что применяются в клинических испытаниях (табл. 4). Такой подход к систематизации статистических принципов и элементов дизайна в доклинических и клинических исследованиях повысит вероятность успешного переноса фармакологических эффектов с животных на человеческую популяцию.

Основные принципы статистического планирования ДКИ для переноса данных можно представить по аналогии с планированием клинических исследований следующим образом [7, 16, 33]:

1. Определение цели посредством четкого формулирования вопросов, на которые должно ответить исследование, и выдвижение проверяемых гипотез.
2. Выбор подходящих моделей: выбор релевантных *in vitro* и *in vivo* моделей, которые максимально приближены к условиям действия препарата у человека. Статистический анализ должен учитывать специфику выбранной модели.
3. Определение размера выборки: расчет необходимого количества животных или клеточных культур для достижения статистической мощности, достаточной для обнаружения значимых эффектов при заданном уровне альфа- и бета-ошибки.
4. Рандомизация: случайное распределение животных или образцов по группам лечения (препарат, плацебо, контрольная группа) для минимизации систематических ошибок, связанных с индивидуальными различиями.
5. Ослепление: скрытие информации о назначенном лечении от исследователей, проводящих эксперимент и анализирующих данные, для предотвращения субъективности.
6. Выбор конечных точек: определение измеряемых параметров, которые будут использоваться для оценки эффекта препарата (например, биомаркеры, выживаемость, изменение физиологического показателей).
7. Статистические методы анализа: выбор соответствующих статистических тестов для сравнения групп (например, *t*-критерий Стьюдента, ANOVA, непараметрические тесты) в зависимости от типа данных и дизайна исследования.
8. Планирование повторных экспериментов: допущение возможности повторения экспериментов для подтверждения результатов и оценки их воспроизводимости.

Таблица 4. Статистические планы, применимые в дизайнах доклинических исследований

Дизайн	Гипотезы и формулы расчета выборки для оценки разницы средних			Гипотезы и формулы расчета выборки для оценки разницы долей		
	H_0	H_a	Формулы	H_0	H_a	Формулы
Одновыборочный Равенство средних (долей)	$\bar{X} - \bar{X}_0 \neq 0$	$\bar{X} - \bar{X}_0 = 0$	$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \times s^2$	$p - p_0 \neq 0$	$p - p_0 = 0$	$n = \frac{[Z_{1-\alpha} \times \sqrt{p_0(1-p_0)} + Z_{1-\beta} \times \sqrt{p(1-p)}]^2}{d^2}$
Двухвыборочный Не меньшей эффективности	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2 \geq d$	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2 < d$	$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(d/s)^2}$	$p_1 - p_2 \geq d$	$p_1 - p_2 < d$	$N = (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \times \frac{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}{d^2}$
Двухвыборочный Превосходство	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2 \leq d$	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2 > d$	$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(d/s)^2}$	$p_1 - p_2 \leq d$	$p_1 - p_2 > d$	$N = (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \times \frac{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}{d^2}$

Таблица составлена авторами по данным источника [16]

Примечание. n — размер выборки; s — стандартное отклонение выборки, d/s — размер эффекта; d — величина разницы ($\bar{X}_1 - \bar{X}_2$) или $(p_1 - p_2)$ или $(p_2 - p_1)$, минимальная ожидаемая значимая разница; $\bar{X}$ — среднее значение распределения переменной отклика (ответа на воздействие); $\bar{X}_0$ — соответствующее исходное (базовое) среднее значение; $\bar{X}_1$ — среднее значение нового лечения; $\bar{X}_2$ — среднее значение стандартного лечения; $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ — величина разницы между выборочными средними; p_0 — исходная пропорция, p — новая пропорция, p_1 — первая доля — значение нового лечения; p_2 — вторая доля — значение стандартного лечения; $Z_{1-\alpha/2}$ и $Z_{1-\beta}$ — это z-значения для оценки достоверности и мощности, соответственно, z — величина, для подстановки в формулу расчета выборки — зависит от выбора желаемого уровня значимости и мощности, где p_0 — исходная пропорция, p — пропорция после воздействия, а $d = p - p_0$ — разница при альтернативной гипотезе (где d — изменение по сравнению с исходным уровнем); p_1 — пропорция нового лечения, p_2 — пропорция стандартного лечения, а $d = p_1 - p_2$ — разница при альтернативной гипотезе (где d — величина разницы, имеющая клиническое значение). Односторонний тест концентрирует 5% в одном хвосте нормального распределения (z -оценка 1,645 или выше). Такое же критическое значение 5% составляет $\pm 1,96$, т.к. 5% составляют из двух хвостов стандартного распределения. $Z_{\alpha/2}$ для тестирования, использующего уровень достоверности 90%, определяется по таблице критических значений z для абсолютной величины 0,05 = 1,64 (при одностороннем тестировании $\alpha/2 = 0,1/2 = 0,05$. Соответствующее критическое значение z определяется по таблице критических значений z для абсолютной величины 0,05 = 1,64 (при одностороннем тестировании гипотезы $Z_{0,1/2} = 1,645$). Далее α при условии выбора уровня достоверности 95% будет $1 - 0,95 = 0,05$, то есть $\alpha/2 = 0,05/2 = 0,025$ и соответствующее критическое значение z для абсолютной величины 0,025 = 1,96 (при одностороннем тестировании гипотезы $Z_{0,05/2} = 1,96$). α при условии выбора уровня достоверности 99% будет $1 - 0,99 = 0,01$, то есть $\alpha/2 = 0,01/2 = 0,005$ и соответствующее критическое значение z для абсолютной величины 0,005 = 2,58 (при одностороннем тестировании гипотезы $Z_{0,01/2} = 2,58$). При условии размера группы не менее 30 и распределения, достаточно близкого к нормальному (например, коэффициент эксцесса не больше нескольких единиц¹⁴).

¹⁴ Герасимов АН. Медицинская статистика. М.: МИА; 2007.

Такой подход расширит возможности определения параметров оценки эффективности и безопасности, а также позволит снизить количество ошибок при экстраполяции наблюдаемых фармакологических эффектов у животных на будущую популяцию пациентов.

Выводы

1. В ходе анализа систематизированы методологические подходы к статистическому и экспериментальному планированию доклинических исследований лекарственных средств. Установлено, что, несмотря на наличие международных и национальных регуляторных требований (ICH, OECD, ГОСТ Р), на практике сохраняется выраженная гетерогенность статистических стратегий, что снижает воспроизводимость результатов и затрудняет межисследовательские сравнения.
2. На основе систематизации предложены унифицированные критерии планирования ДКИ ЛС по следующим позициям: расчет размера выборки в зависимости

от типа конечной точки и мощности; алгоритм выбора первичных и вторичных критериев оценки; правила подбора статистических моделей под экспериментальный дизайн; процедуры рандомизации и ослепления; методы оценки и контроля систематической ошибки.

3. Показано, что унификация статистического планирования на дорегистрационных и регистрационных этапах жизненного цикла ЛС является необходимым условием обеспечения преемственности данных, повышения надежности оценок фармакологических эффектов и их корректной экстраполяции с экспериментальных моделей на целевую популяцию.

4. Предложенная концепция систематизации и унификации создает методическую основу для стандартизации протоколов ДКИ ЛС, что дает возможность минимизировать неинформативные экспериментальные дизайны, сократить временные и ресурсные затраты на этапе разработки и, в конечном счете, повысить достоверность результатов, значимых для клинической практики.

Литература / References

1. Thomas R, Paules R, Simeonov A, Fitzpatrick S, Crofton KM, Casey WM, et al. The US federal tox21 program: a strategic and operational plan for continued leadership. *ALTEX*. 2018;35(2):163–8. <https://doi.org/10.14573/altex.1803011>
2. Аладышева ЖИ, Беляев ВВ, Береговых ВВ, Бркич ГЭ, Грейбо СВ, Демина НБ и др. *Промышленная фармация. Путь создания продукта*. М.; 2019. Aladysheva ZI, Belyaev VV, Beregovykh VV, Brkich GE, Greybo SV, Demina NB, et al. *Industrial pharmacy. The product creation path*. Moscow; 2019 (In Russ.). EDN: [KWJJUK](#)
3. Ko MJ, Lim CY. General considerations for sample size estimation in animal study. *Korean Journal of Anesthesiology*. 2021;74(1):23–9. <https://doi.org/10.4097/kja.20662>
4. Каргопольцева ДР, Крышень КЛ, Макарова МН, Макаров ВГ. Регуляторные и методические аспекты доклинических и клинических исследований кормовых добавок для животных. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018;3:100–12. Kargopolitseva DR, Kryshen KL, Makarova MN, Makarov VG. Regulatory and methodological aspects of preclinical and clinical studies of animal feed additives. *Laboratory Animals for Scientific Research*. 2018;3:100–12 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-03-11>
5. Суворов АЮ, Латушкина ИВ, Гуляева КА, Буланов НМ, Надинская МЮ, Заикин АА. Базовые аспекты мета-анализа. Часть 1. *Семеновский вестник*. 2023;14(1):4–14. Suvorov AYU, Latushkina IV, Gulyaeva KA, Bulanov NM, Nadinskaya MYu, Zaikin AA. Basic aspects of meta-analysis. Part 1. *Sechenov Medical Journal*. 2023;14(1):4–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.1.4-14>
6. Waine K, White C, Dean R, Hudson C, Huxley J, Brennan ML. Assessing the feasibility of retrospective and prospective clinical audit in farm animal veterinary practice. *Veterinary Sciences*. 2021;8(4):62. <https://doi.org/10.3390/vetsci8040062>
7. Васильев АН, Ниязов РР, Гавришина ЕВ, Драницына МА, Куличев ДА. Проблемы планирования и проведения доклинических исследований в Российской Федерации. *РЕМЕДИУМ*. 2017;9:6–18. Vasiliev AN, Niyazov RR, Gavrishina EV, Dranitsyna MA, Kulichev DA. Problems of planning and conduct of preclinical trials in the Russian Federation. *РЕМЕДИУМ*. 2017;9:6–18 (In Russ.). EDN: [ZOLGIP](#)
8. Moher D, Dulberg CS, Wells GA. Statistical power, sample size, and their reporting in randomized controlled trials. *JAMA*. 1994;272:122–4. <https://doi.org/10.1001/jama.1994.03520020048013>
9. Thabane L. *Sample size determination in clinical trials*. HRM-733 Class Notes. Hamilton: St. Joseph's Healthcare; 2004.
10. Каркищенко НН. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования. М.: Межакадемическое издательство; 2007. Karkishchenko NN. *Biomedicine Alternatives*. Vol. 1. *Fundamentals of biomedicine and pharmacomodeling*. Moscow: Interacademic Publishing House; 2007 (In Russ.). EDN: [SOPUYN](#)
11. Шредер ОВ, Бунятян НД, Горячев ДВ, Сюбаев РД, Енгальчева ГН, Кузнецова АД и др. Математическое прогнозирование эффективности лекарственных средств в доклинических исследованиях. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(3):315–30. Shreder OV, Bunyatyan ND, Goryachev DV, Subayev RD, Engalychева GN, Kuznetsova AD, Kosenko VV. Mathematical prediction of drug efficacy in nonclinical studies. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(3):315–30 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-3-315-330>
12. Васильев ПМ, Голубева АВ, Королева АР, Перфильев МА, Кочетков АН. Прогноз *in silico* токсикологических и фармакокинетических характеристик лекарственных соединений. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(4):390–408. Vasiliev PM, Golubeva AB, Koroleva AR, Perfiliev MA, Kochetkov AN. *In silico* forecast of the toxicological and pharmacokinetic characteristics of medicinal compounds. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2023;11(4):390–408 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-4-390-408>
13. Aban IB, George B. Statistical considerations for preclinical studies. *Experimental Neurology*. 2015;270:82–7. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.02.024>

14. Krewski D, Acosta D, Andersen M, Anderson H, Bailar JC, Boekelheide K, et al. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2010;13(0):51–138.
<https://doi.org/10.1080/10937404.2010.483176>
15. Levitt T. Exploit the product life cycle. *Harvard Business Review*. 1965;43:81–94.
16. Reynolds PS. *A guide to sample size for animal-based studies*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2023.
17. Ампилогова ИН, Карлина МВ, Макаров ВГ, Макарова МН. Взаимосвязь фармацевтической разработки и доклинических исследований. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(2):155–63.
Ampilogova IN, Karlina MV, Makarov VG, Makarova MN. The interconnection between pharmaceutical development and preclinical research. *Drug Development & Registration*. 2023;12(2):155–63 (In Russ.).
<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-2-155-163>
18. Sieburg H, McCutchan J, Clay O, Cabalero L, Ostlund J. Simulation of HIV infection in artificial immune systems. *Physica D: Nonlinear Phenomena*. 1990;45:208–27.
[https://doi.org/10.1016/0167-2789\(90\)90184-Q](https://doi.org/10.1016/0167-2789(90)90184-Q)
19. Васильев АН. Качественные доклинические исследования — необходимый этап разработки и внедрения в клиническую практику новых лекарственных препаратов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2012;57(1–2):41–2.
Vasilyev AN. Good preclinical study, as an obligatory stage in design and clinical use of new medicinal preparations. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2012;57(1–2):41–2 (In Russ.). EDN: [QCQRZIE](https://www.edn.ru/qcqrzie)
20. Henderson VC, Kimmelman J, Fergusson D, Grimshaw JM, Hackam DG. Threats to validity in the design and conduct of preclinical efficacy studies: a systematic review of guidelines for *in vivo* animal experiments. *PLoS Medicine*. 2013;10(7):e1001489.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001489>
21. Tannenbaum J, Bennett B, Russell B, Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2015;54(2):120–32.
22. Garber J, Barbee R, Bielitzki J, Clayton L, Donovan JC, Hendriksen CFM, et al. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2011.
<https://doi.org/10.17226/12910>
23. McInnes E, ed. *Pathology for toxicologists: principles and practices of laboratory animal pathology for study personnel*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2017.
<https://doi.org/10.1002/9781118755174>
24. Lambert L, Newman D. Construct development and validation in three practical steps: recommendations for reviewers, editors, and authors. *Organizational Research Methods*. 2023;26(4):574–607.
<https://doi.org/10.1177/10944281221115374>
25. Huang W, Percie du Sert N, Vollert J, Rice ASC. General principles of preclinical study design. In: Bespalov A, Michel M, Steckler T, eds. *Good research practice in non-clinical pharmacology and biomedicine*. Cham: Springer; 2019.
https://doi.org/10.1007/164_2019_277
26. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates; 2013.
27. Lenth RV. Some practical guidelines for effective sample size determination. *The American Statistician*. 2001;55(3):187–93.
<https://doi.org/10.1198/000313001317098149>
28. Петри А, Сэбин К. *Наглядная статистика в медицине*. М.: ГЭОТАР-Мед; 2021.
Petri A, Sabin K. *Visual statistics in medicine*. Moscow: GEOTAR-MED; 2021 (In Russ.).
29. Karp N, Reavey N. Sex bias in preclinical research and an exploration of how to change the status quo. *British Journal of Pharmacology*. 2019;176:4107–18.
<https://doi.org/10.1111/bph.14539>
30. McCarthy MM. Incorporating sex as a variable in pre-clinical neuropsychiatric research. *Schizophrenia Bulletin*. 2015;41:1016–20.
<https://doi.org/10.1093/schbul/sbv077>
31. Макарова МН, Матичин АА, Матичина АА, Макаров ВГ. Принципы выбора животных для научных исследований. Сообщение 1. Выбор модельных организмов на основании филогенетических связей. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022;5(2):58–70.
Makarova MN, Matichin AA, Maticina AA, Makarov VG. Animal choice strategy for research. Report 1: animal choice based on phylogenetic relationships. *Laboratory Animals for Science*. 2022;5(2):58–70 (In Russ.). EDN: [SBSPNR](https://www.edn.ru/sbbspnr)
32. Charan J, Kantharia N. How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2013;4:303–6.
33. Шредер ОВ, Горячев ДВ, Меркулов ВА. Основные принципы расчета необходимой численности участников клинических исследований. Часть 1. Общие подходы (обзор). *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(3):338–50.
Shreder OV, Goryachev DV, Merkulov VA. Basic principles for calculating the required number of participants in clinical trials. Part 1. Common approaches (review). *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(3):338–50 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-338-350>
34. Крышень КЛ, Гушин ЯА, Фаустова НМ, Гушина СВ, Устенко ЖУ, Кательникова АЕ и др. Интерпретация данных токсикологических исследований лекарственных средств при определении дозы, не вызывающей видимых нежелательных эффектов (NOAEL). *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2025;15(3):262–77.
Kryshen KL, Gushchin YaA, Faustova NM, Gushchina SV, Ustenko ZhU, Katelnikova AE, et al. Interpretation of toxicological study data for determination of no observed adverse effect level (NOAEL). *Regulatory Research and Expertise of Medicinal Products*. 2025;15(3):262–77 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-3-262-277>
35. Макарова МН. Доклинические исследования в цикле разработки лекарственных средств. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(3):248–50.
Makarova MN. Preclinical studies in the drug development cycle. *Regulatory Research and Expertise of Medicinal Products*. 2024;14(3):248–50 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-248-250>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: О.В. Шредер — разработка концепции, написание черновика рукописи, редактирование, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; Д.М. Ивашова — подготовка таблиц, рисунков, форматирование текста для публикации.

Об авторах:

Шредер Ольга Васильевна, канд. биол. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7926-6033>

Ивашова Динара Михайловна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6111-6961>