

Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях

Мирошниченко И. И., Симонов А. Н., Кузьмин И. И., Платова А. И.

ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Россия, Москва

Аннотация. Выполнение фармакокинетического и статистического анализа в случае рассеянных данных представляет значительные трудности. На примере изучения фармакокинетики (ФК) ресвератрола у мышей метод ресемплинга позволил получить индивидуальные ФК-параметры и выполнить полноценные статистические тесты.

Ключевые слова: рассеянные данные; фармакокинетика; ресемплинг

Для цитирования:

Мирошниченко И.И., Симонов А.Н., Кузьмин И.И., Платова А.И. Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 2. – С. 28–33. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-28-33

Analysis of sparse data in pharmacokinetic studies

Miroshnichenko II, Simonov AN, Kuzmin II, Platova AI

FSBSI «Mental Health Research Center», Russia, Moscow

Abstract. Performing pharmacokinetic and statistical analysis in the case of sparse data presents significant difficulties. Using the example of the pharmacokinetic (PK) study of resveratrol in mice, the resampling method was allowed us to obtain individual PK-parameters and perform full-fledged statistical tests.

Keywords: sparse data; pharmacokinetics; resampling

For citations:

Miroshnichenko II, Simonov AN, Kuzmin II, Platova AI. Analysis of sparse data in pharmacokinetic studies. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(2):28–33. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-28-33

Введение

В практике фармакокинетических (ФК) исследований нередко возникает ситуация, когда анализируют небольшое количество данных, полученных от одного субъекта. Наиболее типичные случаи получения таких данных: терапевтический лекарственный мониторинг, клиническая фармакокинетика в уязвимых популяциях (новорождённые дети) или проведение ФК-исследований на мелких животных (грызунах). При этом количество образцов от одного субъекта может равняться единице. Такие данные характеризуют как рассеянные или скудные (sparse data) [1].

В дальнейшем мы сконцентрируем внимание на изучении экспериментальной фармакокинетики на мышах, когда количество образцов от одного индивида не превышает одного, что обусловлено малым объёмом циркулирующей крови у этих животных [2].

В качестве типового примера рассмотрим данные, полученные после однократного введения фармацевтических композиций, содержащих ресвератрол [3].

Материалы и методы

Фармакокинетику и биодоступность изучали после однократного введения различных лекарственных форм ресвератрола. Белых мышей линии Balb/c (средняя масса 20 г) разделяли на группы по 36

особей на каждую лекарственную форму – было предусмотрено 6 точек забора крови по 6 особей на каждую точку.

Субстанцию вводили внутрижелудочно (*per os*) в дозе 50 мг/кг в следующих композициях:

- стандартная субстанция транс-ресвератрола. Препарат сравнения (Ref);
- образец нано-субстанции ресвератрола (порошок) ТоДМ-1 (I);
- образец нано-субстанции ресвератрола (порошок) ТоДМ-5 (V).

После введения субстанций кровь отбирали через фиксированные интервалы времени (0,17; 0,5; 1; 2; 4 и 8 часов после введения). В каждой временной точке использовали по 6 мышей. Для отбора крови животных декапитировали.

Количественное определение ресвератрола в плазме крови проводили методом ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии). Использовали спектрофотометрический детектор при длине волны поглощения $\lambda = 310$ нм. Результаты количественного определения представлены в табл. 1.

При стандартном двухэтапном методе – самом распространённом в ФК-исследованиях, измерений концентрации должно быть достаточно для определения индивидуальных параметров каждого субъекта – первый этап.

На втором этапе оцениваются средние и дисперсии идентифицированных параметров для популяции:

$$\theta_{avg} = \sum \theta_j / n,$$

где: θ_j – значение ФК-параметра, полученное у j -го субъекта;

n – число субъектов [4, 5].

Значения параметров при этом достаточно точные, но вариация их зачастую переоценивается. Стандартный двухэтапный метод требует для идентификации N параметров выбранной модели не менее N измерений уровня препарата для каждого пациента популяции, поэтому он не применим в случае обработки скудного массива индивидуальных данных. В то же время его применение совершенно показано в случае рандомизированных сбалансированных испытаний, в частности, при изучении биоэквивалентности лекарственных средств.

Для получения полноценного набора данных для двухэтапного метода анализа скудных данных предложен подход, основанный на ресемплинге с замещением недостающих данных из набора значений концентраций, полученных для других субъектов исследования [6].

При отсутствии возможности получить полный профиль у одного индивида применяют пуловый метод, который и поныне широко распространён [7, 8]. При этом значения концентрации препарата, полученные у различных животных в одинаковые временные точки, объединяются в один ФК-профиль (naïve pooling) для каждой лекарственной формы (табл. 1):

$$C_{i,avg} = \frac{\sum_{j=1}^{j=n} C_{ij}}{n},$$

где: $C_{i,avg}$ – рассчитанная средняя концентрация препарата в момент времени $t = i$;

C_{ij} – значение концентрации, полученное у j -ой особи, в момент времени $t = i$;

n – число животных с проведённым измерением концентрации на каждую временную точку.

Главным недостатком такого подхода является то обстоятельство, что при этом невозможно построение индивидуальных кривых «концентрация–время» и, соответственно, расчёт индивидуальных ФК-параметров.

На основании средних величин концентрации рассчитывают значения соответствующих ФК-параметров (табл. 2). К сожалению, при этом полученные значения получаются весьма приблизительными, поскольку оценить межиндивидуальные различия невозможно. Это позволяет дать только точечную оценку без учёта статистической погрешности. Ввиду этого выявление различий между группами носит преимущественно интуитивный характер.

При наличии рассеянных данных, объединённых в общий ФК-профиль, всё же существует возможность оценки стандартного отклонения (SD) для AUC как характеристики распределения этой величины. Приводим такой расчёт для AUCinf по методу Юаня, требующего предположения, что терминальная константа элиминации (λ_z) известна и постоянна для всех индивидов [9]:

$$SD(AUC\ inf) = \sqrt{(0,5(t_1 - t_0)SE_0)^2 + \sum_{j=2}^m (0,5(t_j - t_{j-2})SE_{j-1})^2 + \left(0,5(t_m - t_{m-1}) + \frac{1}{\lambda_z}\right) SE_m^2},$$

Таблица 1

Экспериментальные данные концентрации ресвератрола после внутрижелудочного введения различных композиций препарата в дозе 50 мг/кг

Лек. форма	T	Концентрация, нг/мл						Среднее	SD
Ref	0,17	38	20	44	13	204	66	64	71
I		700	376	442	450	331	843	524	202
V		120	666	309	843	587	450	496	259
Ref	0,5	53	39	131	110	13	470	136	170
I		404	372	257	259	149	293	289	91
V		385	572	160	1421	744	418	617	440
Ref	1	45	79	124	68	34	100	75	34
I		56	48	59	65	65	51	57	7
V		48	29	90	92	60	97	69	28
Ref	2	38	38	80	35	44	88	54	24
I		42	150	39	37	50	41	60	44
V		23	673	117	71	29	45	160	254
Ref	4	21	31	31	20	18	5	21	10
I		53	69	59	60	50	55	58	7
V		305	41	291	25	22	24	118	140
Ref	8	26	2	16	11	20	24	17	9
I		28	26	21	25	19	26	24	3
V		9	13	57	40	56	9	31	23

Примечание: SD – среднеквадратичное отклонение.

Таблица 2

Значения ФК-параметров ресвератрола, полученные пуловым методом

ФК-параметр	Лек. форма		
	Ref	I	V
Константа элиминации λ_z , ч ⁻¹	0,262	0,161	0,284
Период полувыведения $T_{1/2}$, ч	2,65	4,32	2,44
Время максимума концентрации T_{max} , ч	0,5	0,17	0,5
Максимум концентрации C_{max} , нг/мл	136	524	607
AUC_{0-8} , ч×нг/мл	305	605	1086
$AUC_{0-\infty}$, ч×нг/мл	368	755	1194
Объём распределения V/F , л/кг	517	412	147
Клиренс Cl/F , (л/ч)/кг	135	66	41,8
Среднее резидентное время MRT , ч	4,05	4,67	3,21

Примечания: AUC — площадь под ФК-кривой «концентрация–время»; оценки объёма распределения и клиренса для внесосудистого пути введения приводятся в виде величин, зависящих от биодоступности (F).

где: SE_j — стандартная ошибка концентрации C_j , взятой во временную точку j ;

m — общее число временных точек для забора биоматериала;

t — время после введения препарата.

Рассмотрим набор данных концентраций ресвератрола, измеренных после введения стандартной субстанции (Ref, табл. 1, первый столбец). Образцы плазмы крови были получены от 36 животных: 6 мышей на 6 временных точках. Первым 6 животным присваиваются фактические значения из табл. 1. Значения концентрации в последующие временные точки выбираются случайным образом из имеющихся в распоряжении 6 чисел.

В Excel подобную процедуру выполняют с использованием функции:

=ИНДЕКС(\$B\$X:\$B\$Y;СЛУЧМЕЖДУ(1;СЧЁТ(\$B\$X:\$B\$Y)))

где: B — столбец, соответствующий экспериментальным значениям;

$[X; Y]$ — диапазон 6 концентраций в таблице.

В результате первая строка табл. 3 заполняется следующим образом: 0,17 ч — 38 нг/мл, измеренная величина. Далее следует процедура ресемплинга 0,5 ч — № 6 (470); 1 ч — № 4 (68); 2 ч — № 6 (88); 4 ч — № 1 (21); 8 ч — № 5 (20). В дальнейшем эту операцию повторяют 36 раз для каждой из сравниваемых композиций. Смоделированные с помощью ресемплинга ФК-профили продемонстрированы на рис. 1.

Статистический анализ сгенерированных данных выполняли с помощью программы Stata v. 12.

Результаты и обсуждения

В результате процедуры ресемплинга были получены выборки из 36 наборов значений концентрации для каждой лекарственной формы, позволившие рассчитать индивидуальные ФК-параметры для каждого

Таблица 3

Пример смоделированных путём ресемплинга данных по концентрации ресвератрола (после введения Ref)

№	Время после введения препарата (ч)					
	0,17	0,5	1	2	4	8
1	38	470	68	88	21	20
2	20	39	34	38	20	20
3	44	470	34	38	21	2
...	...	...	...	...	...	...
16	44	13	68	88	21	24
...	...	...	...	...	...	...
25	20	470	100	44	21	11
...	...	...	...	...	...	...
35	204	470	45	44	21	20
36	38	131	34	35	31	24
Среднее	63	153	78	54	22	17
SD	60	176	33	22	8	8

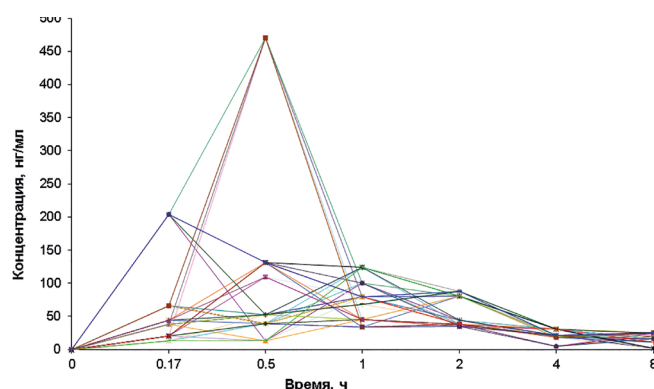


Рис. 1. Фармакокинетические профили ресвератрола, полученные на основе процедуры ресемплинга (после введения субстанции Ref)

Таблица 4

Описательная статистика концентрации композиций ресвератрола после ресемплинга

Лек. форма	Время, ч	Среднее	SD	SE	Минимум	Медиана	Максимум	Размах
Ref	0,17	64	66	11	13	41	204	191
	0,5	134	157	26	13	53	470	457
	1	76	31	5	34	79	124	90
	2	55	22	4	35	44	88	53
	4	22	9	1	5	21	31	26
	8	18	8	1	2	18	26	24
I	0,17	508	164	27	331	450	843	512
	0,5	292	81	13	149	293	404	255
	1	60	6	1	48	62	65	17
	2	59	41	7	37	41	150	113
	4	58	7	1	50	57	69	19
	8	24	3	1	19	26	28	9
V	0,17	512	227	38	120	587	843	723
	0,5	638	432	72	160	572	1421	1261
	1	74	22	4	29	90	97	68
	2	155	237	39	23	45	673	650
	4	73	103	17	22	25	305	283
	8	28	21	4	9	13	57	48

Таблица 5

Описательная статистика ФК-параметров разных лекарственных композиций ресвератрола

ФК-параметр	Лек. форма	Среднее	SD	SE	Минимум	Медиана	Максимум	Размах
λ_z	I	0,22	0,09	0,01	0,10	0,26	0,34	0,24
	Ref	0,24	0,15	0,03	0,06	0,21	0,62	0,56
	V	0,29	0,11	0,02	0,14	0,27	0,68	0,54
$T_{1/2}$	I	3,89	1,76	0,29	2,07	2,62	7,18	5,11
	Ref	3,92	2,43	0,40	1,11	3,37	11,46	10,35
	V	2,72	0,87	0,15	1,02	2,62	5,08	4,05
Cl/F	I	68	8	1	50	69	84	33
	Ref	128	41	7	69	122	245	176
	V	58	25	4	21	56	111	90
MRT	I	2,31	0,18	0,03	1,83	2,32	2,63	0,79
	Ref	2,63	0,50	0,08	1,53	2,63	3,63	2,10
	V	2,03	0,62	0,10	0,97	2,04	3,18	2,21
T_{max}	I	0,20	0,09	0,02	0,17	0,17	0,50	0,33
	Ref	0,79	0,57	0,09	0,17	0,50	2,00	1,83
	V	0,45	0,42	0,07	0,17	0,50	2,00	1,83
V/F	I	376	154	26	183	294	637	454
	Ref	648	273	45	148	595	1204	1056
	V	242	143	24	31	251	531	501
AUC	I	605	81	13	481	595	781	300
	Ref	312	91	15	170	287	538	368
	V	955	548	91	392	690	2408	2015
C_{max}	I	513	160	27	331	450	843	512
	Ref	176	140	23	45	124	470	425
	V	770	361	60	160	673	1421	1261

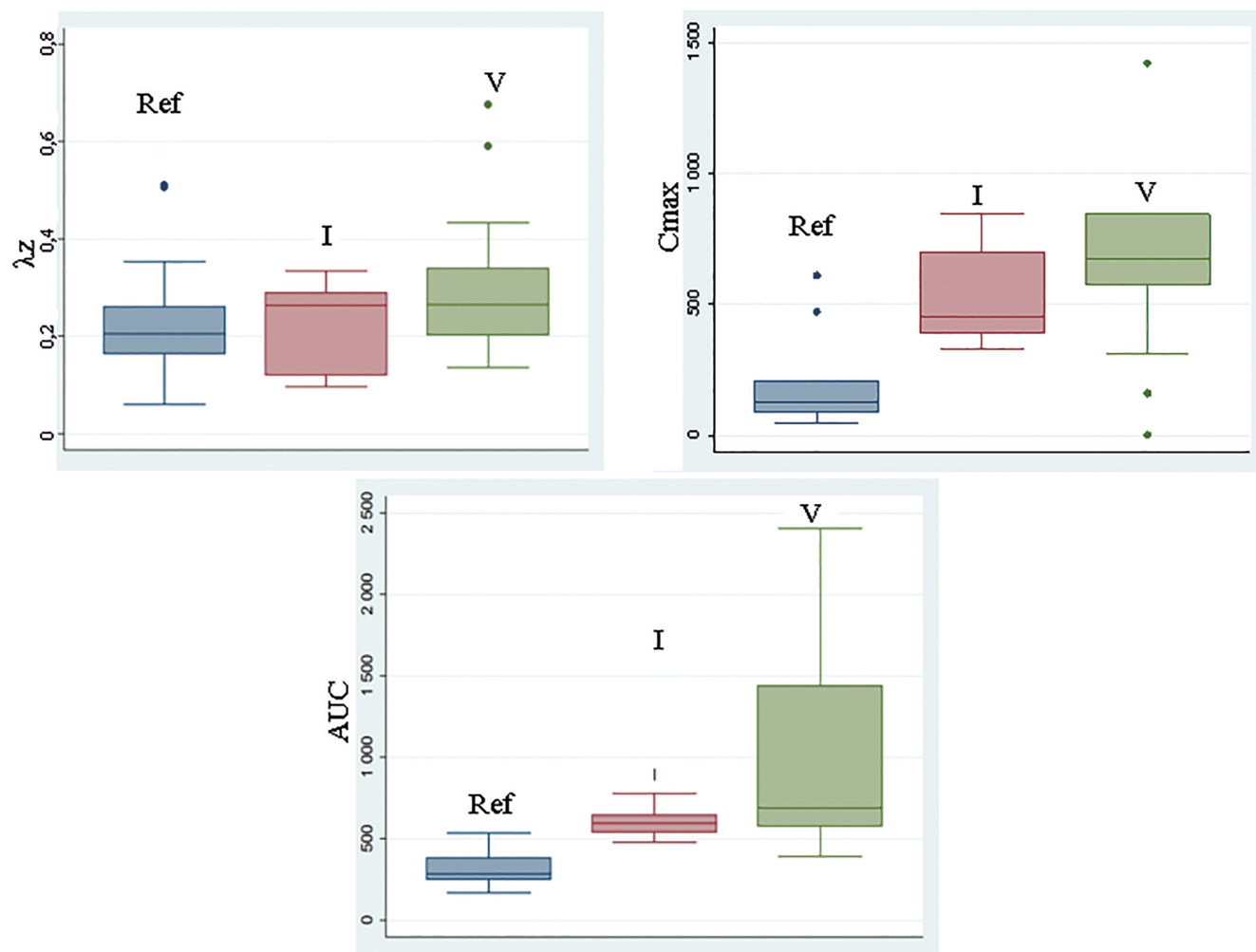


Рис. 2. Сравнение ФК-параметров (AUC , C_{max} и λ_z) изучаемых субстанций ресвератрола

животного. Данные выборки подвергали статистическому анализу, включающему оценку распределения и его основных характеристик (средних, стандартного отклонения (SD)).

Описательная статистика величины концентраций приведена в табл. 4, а ФК-параметров – в табл. 5.

Графическая интерпретация анализа значений λ_z , C_{max} и AUC представлена на рис. 2. концентрации и AUC ресвератрола в трёх выборках (Ref – I – V).

Для дальнейшего анализа, данные были проверены на их принадлежность к нормальному распределению при помощи теста Шапиро–Уилка. Результаты проверки показали, что распределение этих данных существенно отличаются от нормального (p -величина для всех ФК-параметров была меньше 0,05).

Поскольку полученные значения параметров не соответствуют нормальному распределению, для проверки их различий в трёх группах использовали критерий Краскела–Уоллиса, иногда ещё называемый непараметрическим дисперсионным анализом [10].

Анализ данных при помощи критерия Краскела–Уоллиса показал, что эти параметры отличаются для 3 исследованных групп. Для последующего попарного

Таблица 6

Результаты сравнения ФК-параметров групп REF, I и V

Критерий	ФК-параметры		
	λ_z	C_{max}	AUC
Краскела–Уоллиса (все группы)	0,018	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Данна (REF vs. I)	0,830	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Данна (REF vs. V)	0,030	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Данна (I vs. V)	0,030	0,008	0,120

сравнения между группами использовали тест Данна (с учётом поправки на множественность сравнений). Результаты выполненных тестов в виде достигнутого уровня значимости (p -величины) приведены в табл. 6.

Заключение

Метод ресемплинга, примененный к набору рассеянных данных, позволяет рассчитать значения ФК-

параметров, провести их статистическую обработку и дать адекватную оценку различий между экспериментальными группами.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Конфликт интересов. Статья не имела спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за

предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мирошниченко Игорь Иванович

ORCID ID: 0000-0003-4950-5336

SPIN-код: 4117-9703

д. м. н., зав. лабораторией фармакокинетики
ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Miroshnichenko Igor I.

ORCID ID: 0000-0003-4950-5336

SPIN code: 4117-9703

D. Sci. in Medicine, Head of pharmacokinetics
laboratory, FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Симонов Анатолий Никифорович

ORCID ID: 0000-0003-0564-932X

SPIN-код: 7087-8653

к. б. н., в. н. с. лаборатории доказательной
медицины и биостатистики
ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Simonov Anatoliy N.

ORCID ID: 0000-0003-0564-932X

SPIN code: 7087-8653

Candidate of Biological Sciences, Head of laboratory of evidence-based medicine and biostatistics, FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Кузьмин Иван Игоревич

ORCID ID: 0000-0002-9326-4683

SPIN-код: 1442-0325

м. н. с. лаборатории доказательной
медицины и биостатистики,
ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Kuzmin Ivan I.

ORCID ID: 0000-0002-9326-4683

SPIN code: 1442-0325

Research assistant of laboratory of evidence-based medicine and biostatistics, FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Платова Ангелина Игоревна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: platova@psychiatry.ru

ORCID ID: 0000-0002-9682-4623

SPIN-код: 6656-2194

м. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ НЦПЗ, Россия, Москва

Platova Angelina I.

Corresponding author

e-mail: platova@psychiatry.ru

ORCID ID: 0000-0002-9682-4623

SPIN code: 6656-2194

Research assistant of pharmacokinetics laboratory, FSBSI MHRC, Russia, Moscow

Литература / References

- Gabrielsson J, Weiner D. Non-compartmental Analysis. In: Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.). *Methods Mol Biol.* 2012;(929):377–389. DOI: 10.1007/978-1-62703-050-2_16
- Madrigal-Bujaidar E, Pérez-Montoya E, García-Medina S, et al. Pharmacokinetic parameters of ifosfamide in mouse pre-administered with grapefruit juice or naringin. *Sci Rep.* 2019;9(1). DOI: 10.1038/s41598-019-53204-3
- Оганесян ЕА, Мирошниченко ИИ, Вихриева НС, и др. Повышение системной биодоступности транс-резвератрола с использованием наночастиц // *Химико-фармацевтический журнал.* — 2010. — Т. 44. — № 2. — С. 25–28. [Oganessian EA, Miroshnichenko II, Vihrieva NS, et al. Enhanced systemic bioavailability of nanoparticle based formulations of trans-resveratrol. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal.* 2010;44(2):25–28 (In Russ).] DOI: 10.30906/0023-1134-2010-44-2-25-28
- Сергиенко В.И., Джеллифф Р. Бондарева И.Б. Прикладная Фармакокинетика: *Основные Положения и Клиническое Применение.* — М.: Издательство РАМН; 2003. [Sergienko VI, Dzhelliff R, Bondareva IB. *Prikladnaya Farmakokinetika: Osnovnye Polozheniya i Klinicheskoe Primenenie.* Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2003. (In Russ).]

- Chauzy A, Nadji A, Combes J-C, et al. Cerebrospinal fluid pharmacokinetics of ceftaroline in neurosurgical patients with an external ventricular drain. *J Antimicrob Chemother.* 2018;74(3):675–681. DOI: 10.1093/jac/dky489
- Chu H-M, Ette EI. A random sampling approach for robust estimation of tissue-to-plasma ratio from extremely sparse data. *AAPS J.* 2005;7(1): E249–E258. DOI: 10.1208/aapsj070124
- Mahmood I. Naive pooled-data approach for pharmacokinetic studies in pediatrics with a very small sample size. *Am J Ther.* 2014;21(4):269–274. DOI: 10.1097/MJT.0b013e31824ddee3
- Raje AA, Mahajan V, Pathade V V, et al. Capillary microsampling in mice: effective way to move from sparse sampling to serial sampling in pharmacokinetics profiling. *Xenobiotica.* 2020;50(6):663–669. DOI: 10.1080/00498254.2019.1683259
- Wang T, Baron K, Zhong W, Brundage R, Elmquist W. Bayesian approach to estimate AUC, partition coefficient and drug targeting index for studies with serial sacrifice design. *Pharm Res.* 2014;31(3):649–659. DOI: 10.1007/s11095-013-1187-0
- Гржибовский МА. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // *Экология человека.* — 2008. — № 3. — С. 50–58. [Grzhibovskij MA. Analysis of three and more independent groups of quantitative data. *Ekologiya cheloveka.* 2008;(3):50–58. (In Russ).]

Статья поступила в июне 2020 г.