

Сопоставление приёмов расчёта фармакокинетических параметров в исследованиях с дизайном «ЖИВОТНОЕ-ТОЧКА»

© Косман В. М., Карлина М. В., Макарова М. Н., Макаров В. Г.

АО «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл.,
Всеволожский р-н, Кузьмолово, Российская Федерация

Аннотация. При исследовании фармакокинетики (ФК) лекарственных средств с применением мелких лабораторных животных, прежде всего грызунов, часто используют дизайн эксперимента «животное-точка», предполагающий отбор биологического материала после эвтаназии животного. Актуальным является вопрос обработки экспериментальных данных и способ расчёта ФК параметров, в ситуации, когда все значения концентраций получены от разных особей. **Цель исследования.** Сопоставление приёмов расчёта фармакокинетических параметров в исследованиях фармакокинетики с дизайном «животное-точка». **Материалы и методы.** Для ряда исследований, проведённых нами ранее с использованием в качестве тест-систем самцов аутбредных крыс, был выполнен ретроспективный анализ данных и расчёт ФК параметров тремя различными способами: по средним значениям концентраций на каждой временной точке (способ 1); по данным, полученным для животных с одинаковыми порядковыми номерами в подгруппах, соответствующих временным точкам (способ 2); с применением ресемплинга, основанного на моделировании индивидуальных ФК-профилей (способ 3). Параметры фармакокинетики (максимальная концентрация — $C_{\max}$, время достижения максимальной концентрации — $T_{\max}$, площадь под кривой «концентрация—время» — AUC_{0-t} , среднее время пребывания в организме — MRT, период полувыведения — $T_{1/2}$) рассчитаны внемоделным методом статистических моментов с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel. **Результаты.** Сопоставление полученных результатов не позволило выявить какие-либо закономерности и предпочтения применения того или иного способа расчёта ФК параметров в зависимости от исследованных препаратов, пути и кратности введения. Для всех оценённых ФК параметров ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t} , MRT, $T_{1/2}$) получены близкие значения и/или интервалы, что свидетельствовало о корректности применения рассмотренных способов расчёта. **Заключение.** На основании сопоставления преимуществ и недостатков рассматриваемых способов расчёта, показано, что оптимально применение способа 2, являющегося частным случаем ресемплинга (способа 3) с минимальным количеством репликаций. Акцентирование использованного способа расчёта ФК параметров при описании методологии исследований важно для совершенствования их качества.

Ключевые слова: фармакокинетика; крысы; дизайн животное на временную точку; расчёт параметров

Для цитирования:

Косман В. М., Карлина М. В., Макарова М. Н., Макаров В. Г. Сопоставление приёмов расчёта фармакокинетических параметров в исследованиях с дизайном «животное-точка». *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(3):19–27. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-19-27>

Поступила: 03.05.2023. В доработанном виде: 13.05.2023. Принята к печати: 25.05.2023. Опубликована: 30.09.2023.

Comparison of pharmacokinetic parameters calculation techniques in studies with animal-point design

© Vera M. Kosman, Marina V. Karlina, Marina N. Makarova, Valery G. Makarov

Research and manufacturing company "Home of Pharmacy" JSC, Leningrad oblast, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s., Russian Federation

Abstract. In pharmacokinetics (PK) studies of medicinal products with small laboratory animals models, primarily rodents, the design of the animal-point experiment is often used, involves the selection of biological material after euthanasia of the animal. The question of experimental data processing and the PK parameters calculation method in a situation where all concentration values are obtained from different individuals is relevant. **Purpose of the study.** Comparison of pharmacokinetic parameters calculation methods in studies with the animal-point design. **Materials and methods.** For a number of previously conducted studies with male outbred rats test systems, a retrospective data analysis was performed and PK parameters were calculated in three different ways: from the average concentration values at each time point (method 1); from data obtained for animals with the same sequence numbers in subgroups corresponding to time points (method 2); using resampling based on modeling of individual PK profiles (method 3). Pharmacokinetic parameters (maximum concentration — $C_{\max}$, time to reach maximum concentration — $T_{\max}$, area under the curve "concentration-time" — AUC_{0-t} , average time to stay in the body — MRT, half-life — $T_{1/2}$) were calculated by non-compartment method of statistical moments using the validated PKSolver application for Microsoft Office Excel. **Results.** The comparison of the obtained results did not reveal any patterns and preferences for the use of a particular method of calculating PK parameters depending on the studied drugs, route and administration way. For all evaluated PK parameters ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t} , MRT, $T_{1/2}$), similar values and/or intervals were obtained, which indicated the correctness of all considered calculation methods. **Conclusion.** Based on advantages and disadvantages of the calculation methods comparison it is shown that it is optimal to use method 2, which is a special case of reception (method 3) with a minimum number of replications. It is important to emphasize the method of PK parameters calculation when describing the methodology of studies to improve their quality.

Keywords: pharmacokinetics; rats; animal per time point design; parameters calculation

For citations:

Kosman VM, Karlina MV, Makarova MN, Makarov VG. Comparison of pharmacokinetic parameters calculation techniques in studies with animal-point design. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(3):19–27. (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-19-27>

Received: 03.05.2023. Revision received: 13.05.2023. Accepted: 25.05.2023. Published: 30.09.2023.

Введение / Introduction

При исследовании фармакокинетики (ФК) лекарственных средств с применением мелких лабораторных животных, прежде всего грызунов, часто используют дизайн эксперимента «животное-точка», предполагающий отбор биологического материала после эвтаназии животного. Этот приём является классическим и встречается в литературе и нормативной документации как репликативный, дискретный, терминальный (replicate, discrete, terminal) дизайн [1]. Его применение обусловлено, прежде всего, ограниченным объёмом биоматериала, который можно отобрать у одного животного прижизненно на каждой временной точке, его соответствием количеству необходимому для дальнейшего анализа, а также особенностями отбора биоматериала у конкретного биологического вида (например, тромбированием хвостовой вены у крыс), препятствующими повторному отбору биоматериала от одной особи. Несмотря на тенденции к минимизации количества биоматериала, необходимого для анализа, развитие специальных техник для отбора и работы с пробами биоматериала от грызунов [1–4], позволяющими получить полную ФК кривую от одной особи, дизайн «животное-точка» остаётся востребованным в практической работе. Он незаменим в исследованиях, предусматривающих отбор тканей и органов на всех временных точках для оценки распределения действующего вещества исследуемого препарата.

При использовании дизайна «животное-точка», согласно регуляторным документам, необходимо задействовать не менее 5 животных на каждую временную точку [5]. С учётом необходимости отбора биоматериала не менее, чем на 10 точках, минимальное число животных для изучения фармакокинетики одного препарата в одной дозе составляет 50 особей. Увеличение числа животных на каждую временную точку нецелесообразно с этической и экономической точек зрения, поскольку вероятнее всего не приведёт к получению более качественного, достоверного результата, характеризующегося уменьшением вариабельности значений ФК параметров по сравнению с минимальным дизайном [6].

Вместе с тем, актуальным является вопрос обработки экспериментальных данных и способ расчёта ФК параметров в ситуации, когда все значения концентраций получены от разных особей. Очевидно, что в этом случае невозможно получить индивидуальные ФК кривые от каждого животного и рассчитать индивидуальные значения ФК параметров [1]. Поэтому для анализа таких разреженных (рассеянных или скудных, sparse [7, 8]) данных возможно применение специализированного моделирования и методов, разработанных для оценки популяционной фармакокинетики. Эти методы имеют различный диапазон сложности: от простого объединения (пулирования) данных до комплексного нелинейного моделирования смешанных

эффектов (NONMEM) и байесовского моделирования [1, 9, 10]. Среди встречающихся в литературе методов можно выделить два основных способа:

- расчёт ФК параметров по средним значениям концентраций для каждой временной точки или так называемый пуловый метод [4, 8, 11],

- и так называемый ресемплинг, предполагающий замещение недостающих данных из полученного в исследовании набора значений [8, 12].

В качестве ещё одного варианта рассмотрен расчёт по значениям концентраций, полученным для животных с одинаковым порядковым номером из каждой подгруппы (временной точки). Данный способ в течение многих лет использован нами в практике ФК исследований, служивших основой ряда публикаций [13–15].

Цель данной работы — сопоставление приёмов расчёта фармакокинетических параметров в исследованиях фармакокинетики с дизайном «животное-точка».

Материалы и методы / Materials and methods

Для ряда исследований, проведённых в АО «НПО ДОМ ФАРМАЦИИ» в 2020–2022 гг. с использованием в качестве тест-систем самцов аутбредных крыс, был выполнен ретроспективный анализ данных и расчёт ФК параметров тремя различными способами: 1 — по средним значениям концентраций на каждой временной точке; способ 2 — по данным, полученным для животных с одинаковыми порядковыми номерами в подгруппах, соответствующих временным точкам; способ 3 — ресемплинг, основанный на моделировании индивидуальных ФК-профилей.

При выполнении биологических частей соответствующих исследований для изучения одного препарата в одной дозе формировали группы по 50 животных. Каждая группа включала по десять подгрупп (по числу временных точек) по 5 животных в каждой подгруппе. Каждому отобранному в исследование животному присваивали индивидуальный номер, состоящий из трёх регистров: первая часть кодировала номер группы (например, 1); вторая — номер подгруппы (1–10); третья — номер животного в подгруппе (1–5).

Сопоставление способов расчёта ФК параметров выполнено на примере данных, полученных для плазмы крови.

Параметры фармакокинетики (максимальная концентрация — $C_{\max}$, время достижения максимальной концентрации — $T_{\max}$, площадь под кривой «концентрация–время» — AUC_{0-t} , среднее время пребывания в организме — MRT, период полувыведения — $T_{1/2}$) рассчитаны внемоделным методом статистических моментов [16] с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel. При расчётах индивидуальных значений ФК параметров по способу 2 использовали данные для всех животных с одинаковыми номерами (1–5) из каждой подгруппы (временной точки).

Процедура ресемплинга (способ 3) выполнена аналогично алгоритму, приведённому авторами работы [8]: первым пяти животным были присвоены значения концентраций, полученные при анализе экспериментальных проб. Значения концентраций для следующих животных были выбраны случайным образом из имеющихся 5 значений. Процедура аналогична для каждой временной точки и была реализована с помощью стандартного пакета программ Microsoft Office Excel с применением функции:

=ИНДЕКС(В3:F3;СЛУЧМЕЖДУ(1;СЧЁТ(В3:F3))),

где интервал В3:F3 — ячейки, соответствующие экспериментальным значениям.

Общее число значений концентраций для каждой временной точки составило 50 (5 экспериментальных и 45 сгенерированных с помощью процедуры ресемплинга) и соответствовало общему числу животных в экспериментальной группе. На основании полученных массивов концентраций выполнен расчёт индивидуальных значений ФК параметров.

Для обработки данных применена описательная статистика, рассчитаны средние арифметические значения ($\bar{X}$) и соответствующие им стандартные отклонения (SD). Статистический анализ выполнен с помощью лицензированного программного обеспечения (ПО, Prism 9, GraphPad Software, США).

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В ретроспективную обработку данных включены исследования 7 различных препаратов, предполагавших различные способы введения — внутривенное, подкожное, пероральное; в том числе, с различной кратностью введения — однократное и многократное. Результаты расчёта ФК параметров тремя способами приведены в табл. 1. Полученные данные не позволили выявить какие-либо закономерности и предпочтения применения того или иного способа расчёта ФК параметров в зависимости от препаратов, пути и кратности введения.

При сопоставлении ФК параметров, рассчитанных тремя способами, практически во всех случаях и для всех оценённых ФК параметров ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t} , MRT, $T_{1/2}$) получены близкие значения и/или интервалы, перекрывающиеся в пределах погрешностей (стандартных отклонений). Некоторые отличия от общей картины можно отметить для параметров MRT и $T_{1/2}$ препаратов 6 и 7 (№ п/п 11 и 13 в табл. 1): значения, полученные способами 1 и 3, близки между собой, а средние значения, рассчитанные по способу 2 — несколько выше. Однако за счёт сравнительно больших стандартных отклонений значений, рассчитанных способами 2 и 3, их интервалы $\bar{X} \pm SD$ перекрываются.

К числу очевидных недостатков способа 1 следует отнести отсутствие стандартных отклонений, поскольку невозможно рассчитать индивидуальные значения ФК параметров и оценить разброс данных, связанный, в том числе, с индивидуальными особенностями животных. Вместе с тем, данный способ наиболее простой и экономичный с точки зрения временных затрат, что обуславливает его применение многими авторами (например, [17–23]). Он позволяет получить общую информацию о ФК параметрах исследуемого объекта в условиях эксперимента, однако сравнение данных для нескольких групп (например, получавших один препарат в разных дозах и т. п.) затруднительно [8].

При использовании способа 2 наиболее уязвимым аспектом являлось присвоение животным номеров внутри подгруппы (временной точки). В эксперименте распределение животных по группам и подгруппам проводили методом модифицированной блочной рандомизации [24, 25] с использованием генератора случайных чисел, что обеспечивало randomness распределения. Присвоение порядкового номера внутри подгруппы (1–5) производили произвольно. При таком подходе ключевым оказывается вопрос — изменятся ли средние значения ФК параметров, если поменять местами животных внутри одной или каждой подгруппы. Косвенным образом на этот вопрос отвечает применение ресемплинга, позволяющего смоделировать различные сочетания значений концентраций. Сопоставление полученных нами данных свидетельствовало о том, что эти перестановки не приводили к изменению общей ФК картины как на примере ФК профилей (рис. 1), так и на примере средних значений основных ФК параметров (см. табл. 1), рекомендуемых для оценки [5, 26].

Способ 2 требует несколько больших затрат времени на обработку данных по сравнению со способом 1, по крайней мере в варианте использованного нами ПО — надстройки PKSolver для Microsoft Office Excel. Преимуществом данного инструмента является его доступность и простота использования по сравнению с различными специализированными программами для расчёта ФК параметров и совместимость с общеупотребительным ПО (Microsoft Office Excel). Значимым преимуществом способа 2 является возможность получить средние значения рассчитываемых ФК параметров, провести статистическую обработку данных и оценить вариабельность ФК параметров, которая может быть важна в дальнейшем для планирования клинических исследований.

Ресемплинг (способ 3) является примером, так называемого байесовского моделирования. Наряду с приёмами NONMEM его используют в популяционной ФК при анализе небольшого количества данных (от 1), полученных от одного субъекта [1]. Для выполнения такого рода моделирования зачастую необходимо применение специальных пакетов программ, появление которых способствовало развитию

Таблица 1

Показатели фармакокинетики в плазме крови крыс, рассчитанные различными способами ($\bar{X} \pm SD$)

Table 1

Rat plasma pharmacokinetics parameters calculated by various methods ($\bar{X} \pm SD$)

№ п/п	Исследование	Способ расчёта ¹	C _{max} , мкг/мл	T _{max} , ч	AUC _{0-t} ч×мкг/мл	MRT, ч	T _{1/2} , ч
1	Однократное внутрижелудочное введение препарата 1	1	119,6	2,0	1801	26,4	17,4
		2	136±10	3,6±2,6	1801±312	28,6±8,9	18,8±6,5
		3	133±15	3,8±2,6	1798±248	27,0±9,2	17,5±6,2
2	Однократное накожное нанесение препарата 2 на неповреждённую поверхность кожи	1	2,7	1,0	8,6	3,2	1,6
		2	3,4±1,9	1,3±1,0	8,6±3,6	2,9±0,3	1,9±1,5
		3	3,2±1,7	1,9±1,0	9,1±3,5	3,6±1,6	1,9±0,4
3	Многократное накожное нанесение препарата 2 на неповреждённую поверхность кожи	1	1,8	0,8	8,3	5,5	6,5
		2	2,1±0,3	2,0±0,8	8,1±1,3	5,4±1,2	6,2±2,6
		3	2,0±0,3	1,6±0,7	8,0±1,1	5,4±1,3	5,8±2,4
4	Однократное накожное нанесение препарата 2 на повреждённую поверхность кожи	1	0,92	0,8	3,5	4,9	3,0
		2	1,2±0,4	0,9±0,1	3,6±1,0	5,1±2,2	3,8±1,9
		3	1,2±0,3	1,3±0,6	3,6±0,6	5,8±2,9	3,8±2,5
5	Многократное накожное нанесение препарата 2 на повреждённую поверхность кожи	1	0,9	3,0	6,2	6,1	3,6
		2	1,1±0,1	2,0±1,0	6,2±0,7	7,2±1,8	4,1±1,7
		3	1,1±0,1	1,6±0,7	6,3±0,5	6,4±2,5	4,0±1,8
6	Однократное внутрижелудочное введение препарата 3	1	0,5	3,0	2,1	4,8	3,0
		2	0,6±0,2	1,9±1,1	2,1±0,6	6,6±3,0	4,5±2,4
		3	0,6±0,2	1,7±1,0	2,2±0,4	6,4±2,0	4,0±1,5
7	Многократное внутрижелудочное введение препарата 3	1	1,1	1,0	2,7	3,3	2,4
		2	1,5±1,3	1,8±0,8	2,7±1,3	5,3±2,1	4,0±2,2
		3	1,6±1,3	1,7±0,7	2,8±1,4	5,1±2,3	3,2±1,4
8	Однократное внутрижелудочное введение препарата 4	1	59,7	0,5	177,6	2,6	2,7
		2	61,4±6,0	0,9±0,7	177,6±16,3	2,4±0,3	1,4±0,1
		3	62,5±5,6	0,7±0,4	178,9±16,9	2,5±0,3	1,6±0,9
9	Многократное внутрижелудочное введение препарата 4	1	32,3	1,0	101,9	2,2	1,3
		2	38,2±8,2	1,5±0,7	101,9±11,2	2,2±0,1	1,3±0,1
		3	37,1±6,2	1,2±0,6	100,8±9,0	2,3±0,2	1,3±0,1
10	Однократное наружное нанесение препарата 5	1	1,1	1,0	2,9	5,1	3,1
		2	1,2±0,6	1,2±0,5	2,9±0,9	7,7±7,6	4,7±4,3
		3	1,0±0,5	1,4±0,5	2,6±0,8	6,4±4,1	3,8±2,4
11	Однократное наружное нанесение препарата 6, действующее вещество 1	1	0,8	1,0	2,2	6,6	4,1
		2	0,9±0,5	1,2±0,5	2,2±0,8	11,5±7,8	5,6±4,4
		3	1,0±0,5	1,7±0,7	2,5±0,7	6,2±2,6	4,1±1,5
12	Однократное наружное нанесение препарата 6, действующее вещество 2	1	10,5	4,0	238,3	27,9	17,1
		2	12,2±3,1	3,6±1,7	224,5±84,7	57,7±31,8	44,5±25,1
		3	12,6±2,1	3,6±1,6	220,0±43,9	63,9±45,4	48,7±34,5
13	Однократное подкожное введение препарата 7	1	0,4	1,0	1,3	9,4	6,4
		2	0,5±0,2	1,0±0,6	1,3±0,5	15,1±14,5	10,1±10,0
		3	0,5±0,2	1,7±1,4	1,4±0,3	9,8±9,5	6,2±6,3

Примечания: ¹ — способ 1 — по средним значениям концентраций; способ 2 — по животным с одинаковыми порядковыми номерами ($n = 5$); способ 3 — ресемплинг ($n = 50$).

Notes: ¹ — method 1 — by average concentration values; method 2 — for animals with the same sequence numbers ($n = 5$); method 3 — resampling ($n = 50$).

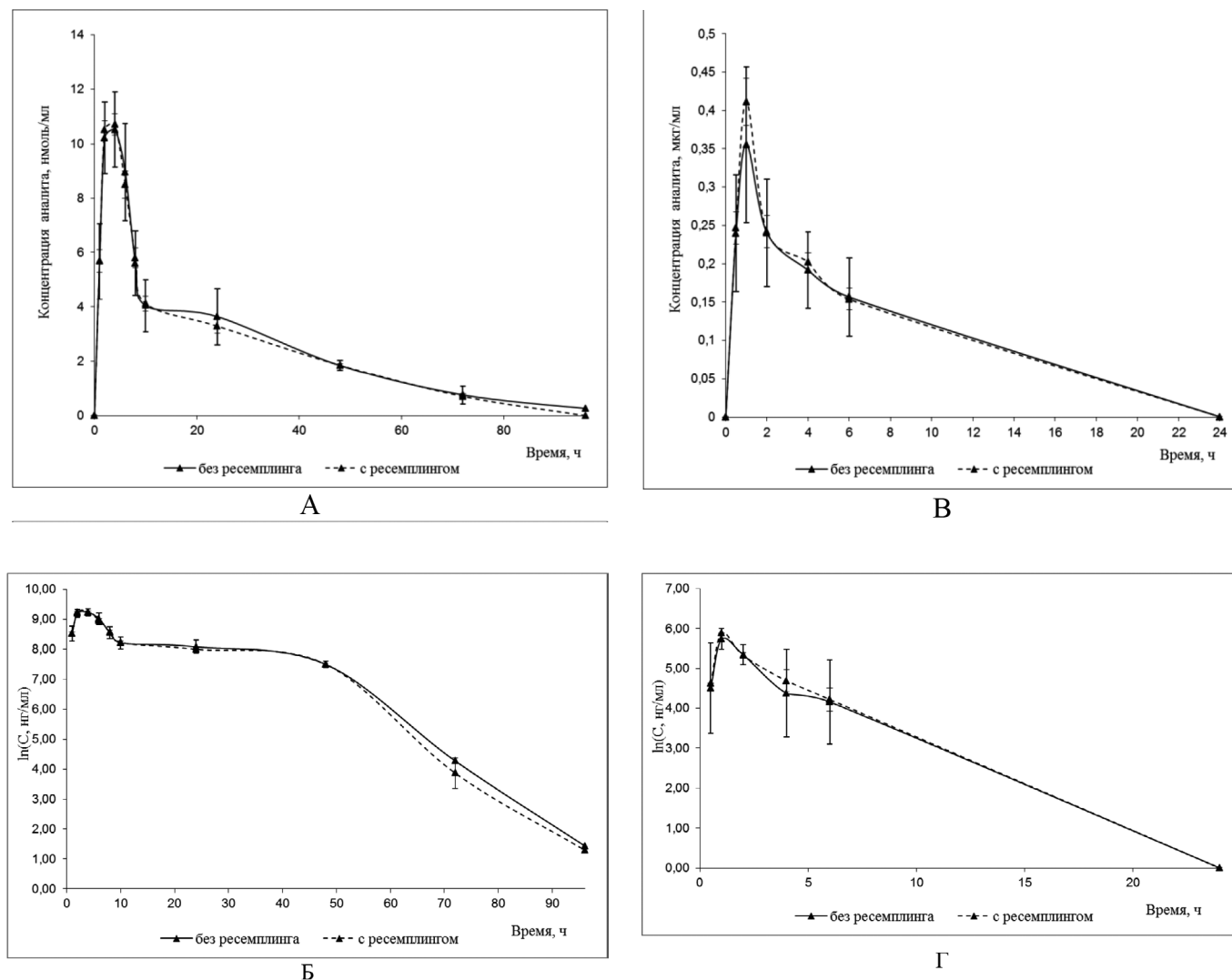


Рис. 1. Сопоставление ФК профилей, полученных при обработке данных по способам 1 и 2 (без ресемплинга, $n = 5$) и способу 3 (с ресемплингом, $n = 50$) для препаратов 6 (А, Б) и 7 (В, Г, исследования 12 и 13 согласно табл. 1) в линейных (А, В) и линейно-логарифмических (Б, Г) координатах (ФК профили, получаемые по способу 1, полностью совпадали с получаемыми по способу 2)

Fig. 1. Comparison of PK profiles obtained after data processing by methods 1 and 2 (without resampling, $n = 5$) and method 3 (resampling, $n = 50$) for drugs 6 (A, B) and 7 (B, D, studies 12 and 13 according to table 1) in linear (A, C) and linear-log (B, D) coordinates (PK the profiles obtained by method 1 were completely the same as those obtained by method 2)

и применению этих приёмов [27]. В нашем случае, как и авторами работы [8], ресемплинг был реализован наиболее простым и доступным методом — с помощью пакета Microsoft Office Excel.

Существенными недостатками данного способа, на наш взгляд, являются:

1. Лабильность результатов расчёта. При каждом новом открытии расчётного файла в ПО Microsoft Office Excel происходило обновление результатов расчёта с использованием функции, приведённой в разделе Материалы и методы. Фиксировать результат ресемплинга оказалось возможным, только путём копирования данных в новые ячейки с помощью функции «вставить как значения». Таким образом, сочетание

концентраций для каждого индивидуального животного, на основании которого далее выполняли расчёт ФК параметров, являлось результатом субъективной остановки «перебора» возможных сочетаний (в момент копирования). Такая особенность данного способа ведёт к возможной невоспроизводимости результатов расчётов (например, при воспроизведении расчётов другим специалистом).

2. Трудозатратность. Даже в минимальном варианте этот способ наиболее затратен по времени (по крайней мере, в варианте использованного ПО) — необходимо обсчитать 50 индивидуальных ФК кривых (вместо 5 при выборе способа 2). Как и авторы [8], мы использовали количество модельных (сгенерирован-

ных) ФК-профилей такое же, как и число животных, задействованных в эксперименте (что, с нашей точки зрения, логично). Вместе с тем, теоретически возможное количество сочетаний (в нашем случае — по 5 значений для 10 временных точек, в работе [8] — по 6 значений для 6 временных точек, в работе [12] — по 3 значения для 6 временных точек) значительно больше.

Отмеченные недостатки способа 3 снижают привлекательность этого приёма расчёта, учитывая, что с его помощью получены результаты близкие к данным более простого и экспрессного способа 2. Преимущества многократного ресемплинга не очевидны.

В литературе можно встретить несколько примеров сопоставления алгоритмов получения некоторых ФК параметров при проведении исследований с использованием в качестве тест-систем мелких лабораторных животных (грызунов). Так, авторы [4] на примере трёх анализов группы нестероидных противовоспалительных препаратов сопоставляют значения основных ФК параметров ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t}), полученные с применением двух основных дизайнов — «животное-точка» (в терминологии авторов — разреженный или sparse дизайн) и отбор биоматериала на всех временных точках у каждого животного (в терминологии авторов — серийный дизайн). В первом случае расчёт ФК параметров выполнен на основании средних значений концентраций на каждой временной точке, во втором — на основании полных ФК профилей от каждого животного. Получение близких, практически совпадающих значений трёх ключевых ФК параметров ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t}) позволило авторам подтвердить корректность предложенного ими способа отбора и обработки биопроб малого объёма (менее 50 мкл) при проведении ФК исследований с использованием мышей.

В работе [11] сопоставлены результаты определения тканевой доступности при наличии разреженных (sparse) данных с помощью различных алгоритмов расчёта. Традиционный подход предполагает определение тканевой доступности (ft), как отношения значения AUC в ткани (AUC_T) к соответствующей величине AUC в плазме. Авторы использовали простое усреднение данных по концентрациям на разных временных точках (native data averaging approach, аналогично рассмотренному выше способу 1) и различные приёмы увеличения размера выборки на базе имеющихся данных за счёт ресемплинга и перестановки — метод случайной выборки (или рандомизации проб, random sampling approach) и метод псевдопрофильного бутстрепа (pseudoprofile bootstrap). Приведённые авторами данные свидетельствовали о том, что все способы расчёта приводили к получению близких средних значений определяемого параметра (ft), а увеличение количества репликации от 5–10 до 1000 практически не приводило к изменению (снижению) значений стандартных отклонений значений определяемого параметра (табл. 2). Авторы рекомендовали

Таблица 2

Данные по оценке тканевой доступности (по материалам [12])

Table 2

Tissue availability data (based on materials [12])

Метод расчёта	Число репликаций (циклов ресемплинга, n)	Результат ($\bar{X} \pm SD$)
Усреднение данных (native data averaging approach)	Не применимо	17,05
Метод случайной выборки (random sampling approach)	5	16,64 $\pm$ 0,88
	10	17,51 $\pm$ 0,85
	50	17,17 $\pm$ 0,95
	1000	17,09 $\pm$ 0,87
Метод псевдопрофильного бутстрепа (pseudoprofile bootstrap)	5	Нет данных
	10	15,76 $\pm$ 0,41
	50	16,71 $\pm$ 0,83
	1000	17,18 $\pm$ 0,78

применение метода случайной выборки (аналогичен рассмотренному выше способу 3) с количеством циклов ресемплинга равному общему числу животных, использованных в эксперименте для получения разреженных данных. Вместе с тем, использованный нами выше способ 2 (по животным с одинаковыми порядковыми номерами) можно рассматривать как частный случай ресемплинга с минимальным числом репликаций (циклов ресемплинга) (в нашем случае — равным 5, в общем случае — числу животных на каждой временной точке).

Косвенно это согласуется с позицией автора работы [11], получившего (на примере инъекционного введения 7 соединений) значения ряда ФК параметров (клиренс — CL, объём распределения — V_{ss} и период полувыведения — $T_{1/2}$) на основании данных от 5–10 субъектов и 1–2 проб крови от каждого субъекта. По его мнению, отбор по 1 пробе от 5 субъектов является минимально необходимым объёмом экспериментального материала в ходе педиатрических исследований, являющихся примером исследований с очень маленькими выборками (разреженными или рассеянными, sparse выборками).

Необходимо подчеркнуть, что авторы публикаций не всегда указывают способ расчёта ФК параметров при использовании дизайна «животное-точка». Так, в работах [17–21] однозначно подчеркнуто, что расчёт выполнен по средним значениям. При ознакомлении с работами [22, 23] об этом можно догадаться по отсутствию стандартных отклонений для значений ФК параметров. Авторы работ [13–15] также не придавали значения данному аспекту и не подчеркивали с помощью какого приёма были получены индивидуальные значения ФК параметров, которые затем усреднены для представления в публикациях. Единственным моментом, позволяющим восстановить эту информацию, являлось указание числа усреднённых значений (n),

как правило, равнявшееся 5 (числу животных на каждую временную точку). А вот при анализе работ [28, 29] восстановить или предположить использованный способ расчёта не представляется возможным — образцы биоматериала отбирали при эвтаназии животных, данные по ФК параметрам представлены в виде средних значений и соответствующих стандартных отклонений, а число усреднённых значений не указано. Полагаем, что более детальное освещение данного элемента статистической обработки данных при представлении результатов ФК исследований такого рода было бы крайне важным и полезным, способствовало бы повышению качества работ и соблюдению принципов GLP, предусматривающих полноту и прослеживаемость информации [30, 31].

Заключение / Conclusion

На основании ретроспективной обработки данных ряда исследований, с использованием дизайна «животное-временная точка», выполнен расчёт ФК параметров различными способами — по средним значениям концентраций, по животным с одинаковыми порядковыми номерами и с применением ресемплинга.

Сопоставление полученных результатов не позволило выявить какие-либо закономерности и предпочтения применения того или иного способа расчёта ФК параметров в зависимости от исследованных препаратов, пути и кратности введения. Для всех оценённых ФК параметров ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-t} , MRT , $T_{1/2}$) получены близкие значения и/или интервалы, что свидетельствовало о корректности применения рассмотренных способов расчёта. На основании сопоставления преимуществ и недостатков рассматри-

ваемых способов расчёта, оптимальным представляется расчёт по данным, полученным для животных с одинаковыми порядковыми номерами в подгруппах, соответствующих временным точкам, который является частным случаем ресемплинга с минимальным количеством репликаций.

Акцентирование использованного способа расчёта ФК параметров при описании методологии исследований важно для совершенствования их качества.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

Сведения о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Участие авторов. *Косман В. М.* — расчёт фармакокинетических параметров, подготовка публикации; *Карлина М. В.* — обсуждение способов оценки фармакокинетических параметров; *Макарова М. Н.* — критический пересмотр содержания статьи; *Макаров В. Г.* — критический пересмотр содержания статьи и утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Participation of authors. *Kosman VM* — pharmacokinetic parameters calculation, publication preparing; *Karlina MV* — results discussion; *Makarova MN* — manuscript critical revision; *Makarov VG* — critical revision of the content of the article and approval of the final version of the article for publication.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Косман Вера Михайловна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: kosman.vm@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>

к. фарм. н., руководитель химико-аналитической лаборатории, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Всеволожский р-н, Кузьмоллово, Российская Федерация

Vera M. Kosman

Corresponding author

e-mail: kosman.vm@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>

PhD, Cand. Sci. (Pharm), head of analytical laboratory, "RMC "HOME OF PHARMACY" JSC, Leningrad oblast, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s., Russian Federation

Карлина Марина Валерьевна

e-mail: karlina.mv@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>

к. б. н., руководитель отдела технологии, кинетики и анализа лекарственных средств, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Всеволожский р-н, Кузьмоллово, Российская Федерация

Marina V. Karlina

e-mail: karlina.mv@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>

PhD, Cand. Sci. (Biolog), head of department of technology, kinetics and analysis of drugs, "RMC "HOME OF PHARMACY" JSC, Leningrad oblast, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s., Russian Federation

Макарова Марина Николаевна

e-mail: makarova.mn@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

д. м. н., директор, АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Всеволожский р-н, Кузьмоллово, Российская Федерация

Marina N. Makarova

e-mail: makarova.mn@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

Dr. Sci (Med.), director, "RMC "HOME OF PHARMACY" JSC, Leningrad oblast, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s., Russian Federation

Макаров Валерий Геннадиевич

e-mail: makarov.vg@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>

д. м. н., профессор, научный руководитель АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Всеволожский р-н, Кузьмоллово, Российская Федерация

Valery G. Makarov

e-mail: makarov.vg@doclinika.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>

Dr. Sci (Med.), Professor, scientific supervisor, "RMC "HOME OF PHARMACY" JSC, Leningrad oblast, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s., Russian Federation

Список литературы / References

1. Valic MS, Halim M, Schimmer P, Zheng G. Guidelines for the experimental design of pharmacokinetic studies with nanomaterials in preclinical animal models. *J Control Release*. 2020 Jul 10;323:83–101. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.04.002.
2. Joyce AP, Wang M, Lawrence-Henderson R, et al. One mouse, one pharmacokinetic profile: quantitative whole blood serial sampling for biotherapeutics. *Pharm Res*. 2014 Jul;31(7):1823–1833. DOI: 10.1007/s11095-013-1286-y.
3. Liu L, Cao B, Aa J, et al. Prediction of the pharmacokinetic parameters of triptolide in rats based on endogenous molecules in pre-dose baseline serum. *PLoS One*. 2012;7(8):e43389. DOI: 10.1371/journal.pone.0043389.
4. Raje AA, Mahajan V, Pathade VV, et al. Capillary microsampling in mice: effective way to move from sparse sampling to serial sampling in pharmacokinetics profiling. *Xenobiotica*. 2020 Jun;50(6):663–669. DOI: 10.1080/00498254.2019.1683259.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Миронов А. Н. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. CHast' pervaya. Mironov AN Moscow: Grif i K, 2012. (In Russ).].
6. Косман В.М., Карлина М.В. Ретроспективная оценка вариабельности фармакокинетических параметров в зависимости от биологического вида и числа особей в экспериментальной группе. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2023; 1. [Kosman VM, Karlina MV. Retrospective of pharmacokinetic parameters variability in dependence on biological species and number of individuals in the experimental group. *Laboratory Animals for Science*. 2023; 1. (In Russ).]. DOI: 10.57034/2618723X-2023-01-06.
7. Gabrielson 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.
8. Мирошниченко И.И., Симонов А.Н., Кузьмин И.И., Платова А.И. Анализ рассеянных данных в фармакокинетических исследованиях. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2020;(2):28–33. [Miroshnichenko II, Simonov AN, Kuzmin II, Platova AI. Analysis of sparse data in pharmacokinetic studies. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2020;(2):28–33. (In Russ).]. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-28-33.
9. van Bree J, Nedelman J, Steimer J-L, et al. Application of Sparse Sampling Approaches in Rodent Toxicokinetics: A Prospective View. *Drug Information Journal*. 1994;28(1):263–279. DOI: 10.1177/009286159402800134
10. Wang T, Baron K, Zhong W, et al. Bayesian approach to estimate AUC, partition coefficient and drug targeting index for studies with serial sacrifice design. *Pharm Res*. 2014 Mar;31(3):649–659. DOI: 10.1007/s11095-013-1187-0.
11. Mahmood I. Naive pooled-data approach for pharmacokinetic studies in pediatrics with a very small sample size. *Am J Ther*. 2014 Jul-Aug;21(4):269–274. DOI: 10.1097/MJT.0b013e31824ddee3.
12. Chu HM, Ette EI. A random sampling approach for robust estimation of tissue-to-plasma ratio from extremely sparse data. *AAPS J*. 2005 Sep 2; 7(1):E249–58. DOI: 10.1208/aapsj070124.
13. Pozharitskaya ON, Shikov AN, Faustova NM, et al. Pharmacokinetic and Tissue Distribution of Fucoidan from *Fucus vesiculosus* after Oral Administration to Rats. *Mar Drugs*. 2018 Apr 18;16(4):132. DOI: 10.3390/md16040132.
14. Shikov AN, Pozharitskaya ON, Faustova NM, et al. Pharmacokinetic Study of Bioactive Glycopeptide from *Strongylocentrotus droebachiensis* After Intranasal Administration to Rats Using Biomarker Approach. *Mar Drugs*. 2019 Oct 11;17(10):577. DOI: 10.3390/md17100577.
15. Косман В.М., Демченко Д.В., Джайн (Корсакова) Е.А. и др. Исследование фармакокинетики оригинального лекарственного средства для лечения ВИЧ-1 инфекции. *Фармация*. 2021;70(4):48–56. [Kosman VM, Demchenko DV, Jain (Korsakova) EA, et al. Investigation of the pharmacokinetics of an original drug for the treatment of HIV-1 infection. *Pharmacy*. 2021;70(4):48–56. (In Russ).]. DOI: 10.29296/25419218-2021-04-08.
16. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed*. 2010 Sep;99(3):306–314. DOI: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007.

17. Beconi MG, Howland D, Park L, et al. Pharmacokinetics of memantine in rats and mice. *PLoS Curr*. 2011 Dec 15;3:RRN1291. DOI: 10.1371/currents.RRN1291.
18. Жердев В.П., Бойко С.С., Бlynская Е.В. и др. Доклиническое изучение фармакокинетики нового анксиолитика дипептидной структуры ГБ-115. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2015;(1):52–59. [Zherdev VP, Boyko SS, Blynskaya EV, et al. Preclinical study the pharmacokinetics new anxiolytic drug of dipeptide structure GB-115. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2015;(1):52–59. (In Russ).].
19. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. и др. Сравнительное изучение фармакокинетики метаболита тропоксина у различных видов животных и человека. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2017;(2):30–34. [Zherdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA, et al. Pharmacokinetic comparative study of tropoxine metabolite in miscellaneous animal species and humans. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(2):30–34. (In Russ).].
20. Раскин С.Ю., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. и др. Фармакокинетика дипептидного анксиолитика ГБ-115 после перорального введения у различных видов животных и человека. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2017;(3):20–25. [Raskin SYu, Kolyvanov GB, Litvin AA, et al. Pharmacokinetics of dipeptide anxiolytic GB-115 after oral administration in different animals species and humans. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(3):20–25. (In Russ).].
21. Ковалёв Г.И., Золотарёв Ю.А., Дадаева А.К. и др. Изучение фармакокинетики [3H]-циклопролилглицина в крови крыс. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2018;(3):48–56. [Kovalev GI, Zolotarev YuA, Dadayan AK, et al. The Study of [3H]-Cyclopropylglycine Pharmacokinetics in Rat Blood. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2018;(3):48–56. (In Russ).]. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10024.
22. Ноздрин В.И., Пьявченко Г.А., Иванова М.Е., Гузев К.С., Кузнецов С.Л. Изучение некоторых параметров фармакокинетики фенола, входящего в состав пасты с антисептиком-стимулятором Дорогова 3 фракции. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019;8(3):57–61. [Nozdrin VI, Pivachenko GA, Ivanova ME, Guzev KS, Kuznetsov SL. Evaluation of pharmacokinetic parameters of phenol, a component of Dorogov's antiseptic-stimulator 3 fraction paste. *Drug development & registration*. 2019; 8(3): 57–61. (In Russ).]. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-57-61.
23. Борозденко Д.А., Ляхман Д.Н., Голубев Я.В. и др. Изучение фармакокинетики и нейропротекторной активности нового производного 4-фенилпирролидинона-2 в модели ишемического инсульта на животных. *Вестник РГМУ*. 2020;(1):51–58. [Borozdenko DA, Lyakhmun DN, Golubev YV, et al. Study of the new 4-phenylpyrrolidinone-2 derivative pharmacokinetics and neuroprotective effect in the ischemic stroke animal model. *Bulletin of RSMU*. 2020;(1):49–56.]. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.010.
24. Altman DG, Bland JM. How to randomize. *BMJ*. 1999;319(7211):703–704. DOI: 10.1136/bmj.319.7211.703.
25. Bland J.M. An Introduction to Medical Statistics. 3rd edition. New York: Oxford University Press, 2000. 422 p.
26. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.12.2020 N 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов». [Recommendation of the Board of the Eurasian Economic Commission dated 22.12.2020 N 33 «O Rukovodstve po izucheniyu toksikokinetiki i ocenke sistemnogo vozdeystviya v toksikologicheskikh issledovaniyakh lekarstvennykh preparatov». (In Russ).]. URL: <https://www.alta.ru/tamdoc/20rk0033/>
27. Lee SY. Bayesian Nonlinear Models for Repeated Measurement Data: An Overview, Implementation, and Applications. *Mathematics*. 2022;10:898. DOI: 10.3390/math10060898.
28. Быков В.В., Леонов К.А., Серебров В.Ю., Удут В.В. Фармакокинетика циркулирующего пула антиагреганта индолинонового ряда. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2019;(3):44–51. [Bykov VV, Leonov KA, Serebrov VYu, Udu VV. Pharmacokinetics of an antiplatelet drug of indolinone series in the bloodstream. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2019;3:44–51. (In Russ).]. DOI: 10.31549/2542-1174-2019-3-44-51.
29. Быкова А.В., Быков В.В., Мотов В.С. и др. Фармакокинетические параметры сложноэфирного производного индометасина. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;(3):17–26. [Bykova AV, Bykov VV, Motov VS, et al. Pharmacokinetic parameters of an ester derivative of indomethacin. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;(3):17–26. (In Russ).]. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-3-17-26.
30. Решение Совета ЕЭК №81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016 г. [Decision of the EEC Council No. 81 «Ob utverzhdenii pravil nadležashchej laboratornoj praktiki Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv» ot 03.11.2016. (In Russ).]. URL: <https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0081/>
31. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». [Interstate standard GOST 33044-2014 «Principy nadležashchej laboratornoj praktiki». (In Russ).]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200115791>.