

<https://doi.org/10.29296/25877305-2020-09-08>

## Статистическая значимость результатов клинического исследования препарата эпифиза (эпиталамина)

Е.А. Вершинина<sup>1,2</sup>,Г.Л. Сафарова<sup>2</sup>, доктор биологических наук,И.Г. Попович<sup>3</sup>, доктор биологических наук,В.Х. Хавинсон<sup>1,3</sup>, член-корреспондент РАН, профессор<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>2</sup>Институт проблем региональной экономики РАН, Санкт-Петербург<sup>3</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии

E-mail: irina\_porovich@inbox.ru

*Представлены результаты математической обработки данных клинического исследования эффективности лекарственного пептидного препарата, выделенного из эпифиза телят – эпиталамина у лиц пожилого возраста. Используемые методы статистического анализа позволяют утверждать, что введение пациентам препарата эпиталамин способствует статистически значимому снижению смертности по сравнению с контрольной группой пациентов. Эти данные являются важным фактом и объективным логическим продолжением многолетних экспериментальных исследований влияния пептидного препарата эпифиза на различные показатели старения и канцерогенеза у животных.*

**Ключевые слова:** клиническое исследование, пептиды, эпиталамин, методы математической статистики.

**Для цитирования:** Вершинина Е.А., Сафарова Г.Л., Попович И.Г. и др. Статистическая значимость результатов клинического исследования препарата эпифиза (эпиталамина). *Врач.* 2020; 31 (9): 48–51. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-09-08>

Проблема статистической обработки результатов многолетних клинических исследований лекарственных препаратов при небольшом числе пациентов в группах является крайне актуальной. Это связано с уникальностью таких исследований и невозможностью в современных экономических условиях набрать большие группы пациентов. В связи с этим цель данной работы состояла в пересчете результатов клинического исследования лекарственного препарата эпиталамин, представленного в работе О.В. Коркушко и соавт. (2011) [4]. Необходимо подчеркнуть, что эпиталамин выделен из эпифизов мозга крупного рогатого скота и представляет собой комплекс пептидов с молекулярной массой менее 10 кДа. Эпиталамин в 1990 г. был включен в Государственную Фармакопею (Рег. №90/250/6) [9]. Этот пептидный препарат способствовал статистически значимому увеличению продолжительности жизни и сни-

жению частоты возникновения спонтанных и индуцированных канцерогенами опухолей у животных по сравнению с контролем в многочисленных экспериментах. Эпиталамин также частично восстанавливал функцию репродуктивной системы у старых крыс [6, 7]. Следует отметить, что эпиталамин до настоящего времени не имеет аналогов в мировой медицинской практике, что подчеркивает его уникальность. Для получения более полных, надежных и всесторонних результатов в клинических исследованиях используют метаанализ. Такой метаанализ был ранее проведен для эпиталамина [3].

В данной работе нашей основной задачей явилось исследование эффективности эпиталамина с использованием адекватных статистических критериев в соответствии с международными стандартами анализа клинических исследований (особенно для небольших групп пациентов).

В клиническом исследовании, проводимом в течение 15 лет в Институте геронтологии Национальной академии медицинских наук Украины с 1992 г., приняли участие 79 пациентов пожилого возраста (60–69 лет). Пациенты были рандомизированы в 2 группы, которые существенно не различались по исходным показателям – возраст, соотношение мужчин и женщин, функциональный возраст (ФВ) сердечно-сосудистой системы (ССС), толерантность к физической нагрузке, тяжесть заболевания и др. Протокол клинического исследования (сведения о смертности пациентов в разных группах) для пересчета данных представил руководитель клинического исследования Института академик НАМН Украины О.В. Коркушко. Отметим, что в протоколе не было данных о среднем возрасте ( $\pm SD$ ) участников, а также о долях мужчин и женщин в группах.

Для математического анализа был использован ряд статистических методов. Данные статистического анализа представлены абсолютными и относительными частотами в процентах и стандартными ошибками. Для сравнения выживаемости в группах использовали критерий  $\chi^2$ , а также рассчитывали отношения шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами (ДИ). Анализ выживания (дожития) проводили при помощи метода Каплана–Мейера. Статистические решения принимались на 5%-ном уровне значимости. Анализ данных проводили на основании программного комплекса SPSS Inc. [1].

В табл. 1 представлены частоты оставшихся в живых пациентов последовательно по годам наблюдений: 1-я группа – пациенты, получавшие базовую терапию (контрольная группа), 2-я группа – пациенты, получавшие наряду с базовой терапией внутримышечно эпиталамин, а также результаты сравнения частот выживания в группах.

Исходя из результатов, приведенных в табл. 1, можно утверждать, что начиная с 10-го года исследования,

наблюдается устойчивая закономерность значимого превышения частоты выживаемости во 2-й группе по сравнению с таковой в 1-й группе. Аналогично, ОШ с 10-го года становится значимым и колеблется в пределах 2,5–3,0. Следует сделать вывод, что вероятность выживания пациентов при введении эпиталамина за указанный период примерно в 3 раза превышает таковую при использовании только базовой терапии.

На рис. 1 и 2 представлены частота (%) и стандартные отклонения для частоты, значения соответственно ОШ и 95% ДИ ( $ДИ_L$ ,  $ДИ_U$ ), наглядно демонстрирующие результаты, приведенные в табл. 1.

Помимо перечисленных критериев для сравнения уровня выживаемости в 1-й и 2-й группах применяли метод Каплана–Мейера. Этот метод позволяет в течение определенного периода (в данном случае в течение 15 лет), изучать закономерность появления определенного исхода у пациентов наблюдаемых выборок с цензурированными данными [1, 2, 8, 11]. Цензурированные данные характеризуют процесс, который на момент последнего обследования не заканчивается наступлением изучаемого исхода (то есть не все пациенты умерли к концу исследования). Метод Каплана–Мейера или множительный непараметрический метод (product-limit method) позволяет оценить кумулятивную функцию выживания (survival function, S) в момент возникновения каждого случая исхода. Кумулятивная функция распределения F(t) времен ожидания отражает вероятность того, что время ожидания события меньше t. Таким образом, функция выживания  $S(t) = 1 - F(t)$  равна вероятности того, что событие не состоится ранее, чем по истечении времени t.

Графическим отражением метода Каплана–Мейера является построение кривой выживаемости. Эта кривая отражает долю пациентов, у которых изучаемый исход не произошел к определенному моменту времени (в нашем случае интервал времени представлен в

годах). Каждое событие на графике отражается шагом/ступенькой вниз, то есть происходит это только тогда, когда меняется значение функции дожития (доли выживших). Форма кривой меняется в зависимости от числа случаев и времени их возникновения. Цензурированные случаи отражаются на графике кривой выживаемости знаком «+».

Результаты применения метода Каплана–Мейера представлены в табл. 2, 3 и на рис. 3. Оценка среднего и медианы ожидаемого времени жизни (неполучения исхода) дана в табл. 2. Из табл. 2 следует, что среднее время, свободное от исхода (то есть среднее время жизни в период от начала исследования), составляет  $11,23 \pm 0,66$  и  $13,13 \pm 0,54$  года соответственно для 1-й и

Таблица 1

Частота выживших пациентов в группах получавших только базовую терапию и принимавших дополнительно эпиталамин по годам наблюдения (результаты сравнения критерием  $\chi^2$  и значения ОШ с 95% ДИ)

Table 1

The frequencies of surviving patients in the group receiving only basic therapy and in the group taking additionally epithalamine by the years of follow-up (the results of comparison by the  $\chi^2$  test and the odds ratio with 95% confidence intervals)

№	Годы	k1	k2	h1	SE1	h2	SE2	$\chi^2$	Sig.	ОШ	$ДИ_L$	$ДИ_U$
0	1992–1993	40	39	–	–	–	–	–	–	–	–	–
1	1993–1994	40	39	100,0	0	100,0	0	–	–	–	–	–
2	1994–1995	40	39	100,0	0	100,0	0					
3	1995–1996	39	39	98,0	2,5	100,0	0	0,988	0,320			
4	1996–1997	37	38	93,0	4,2	97,0	2,6	1,001	0,317	3,081	0,31	30,98
5	1997–1998	34	37	85,0	5,7	97,0	2,6	3,782	0,052*	6,706	0,77	58,55
6	1998–1999	32	36	80,0	6,4	92,0	4,3	2,496	0,114	3,000	0,73	12,28
7	1999–2000	30	35	75,0	6,9	90,0	4,9	2,944	0,086*	2,917	0,83	10,26
8	2000–2001	29	34	73,0	7,1	87,0	5,4	2,635	0,105	2,579	0,80	8,29
9	2001–2002	26	32	65,0	7,6	82,0	6,2	2,942	0,086*	2,462	0,87	7,00
10	2002–2003	23	31	58,0	7,9	79,0	6,6	4,413	0,036**	<b>2,864</b>	<b>1,06</b>	<b>7,77</b>
11	2003–2004	22	30	55,0	8,0	77,0	6,8	4,219	0,040**	<b>2,727</b>	<b>1,03</b>	<b>7,20</b>
12	2004–2005	20	29	50,0	8,0	74,0	7,1	4,975	0,026**	<b>2,900</b>	<b>1,12</b>	<b>7,49</b>
13	2005–2006	19	27	48,0	8,0	69,0	7,5	3,834	0,050**	2,487	0,99	6,24
14	2006–2007	18	27	45,0	8,0	69,0	7,5	4,729	0,030**	<b>2,750</b>	<b>1,09</b>	<b>6,92</b>
15	2007–2008	16	26	40,0	7,8	67,0	7,6	5,639	0,018**	<b>3,000</b>	<b>1,20</b>	<b>7,52</b>

**Примечание.** \* – Тенденция значимости; \*\* – значимость при  $p < 0,05$ ; полужирным шрифтом выделены значимые ОШ, нижний ДИ которых превышает значение 1 (если ДИ не включает значение 1, то ОШ считается незначимым) [5]; число выживших в группах: k1 – в 1-й, k2 – во 2-й; частота (%) выживших в группах: h1 – в 1-й, h2 – во 2-й; стандартная ошибка для частоты в группах: SE1 – в 1-й, SE2 – во 2-й;  $\chi^2$  – значение критерия  $\chi^2$  при сравнении частоты выживших в 1-й и 2-й группах; Sig. – уровень значимости при сравнении частот выживших в 1-й и 2-й группах; 95% граница для ОШ:  $ДИ_L$  – нижняя;  $ДИ_U$  – верхняя.

**Note.** \* significance, at  $p < 0.05$ ; \*\* a trend towards significance. Boldface indicates the significant ORs, the lower confidence limit of which exceeds 1 (if the confidence interval does not include 1, the odds ratio is considered insignificant) [5]; k1 is the number of survivors in Group 1; k2 is the number of survivors in Group 2; h1 is the frequency in the percentages of survivors in Group 1; SE1 is the standard error for the frequency in Group 1; h2 is the frequency in the a percentages of survivors in Group 2; SE2 is the standard error for the frequency in Group 2;  $\chi^2$  is the value of the  $\chi^2$  test when comparing the frequencies of survivors in Group 1 and those in Group 2; Sig. is the significance level when comparing the frequencies of survivors in Group 1 and those in Group 2; OddsRatio is the odds ratio;  $CI_L$  is the lower 95% confidence limit for odds ratio;  $CI_U$  is the upper 95% confidence limit for odds ratio.

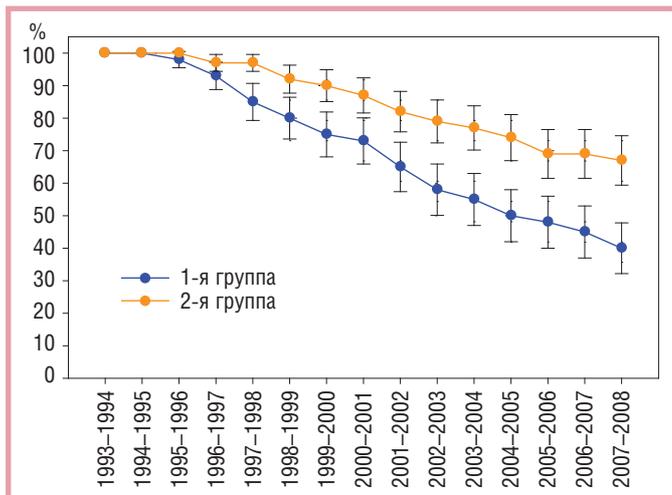


Рис. 1. Частота (%) и стандартные отклонения для частот  
Fig. 1. Frequencies (in percent) and standard deviations for frequencies

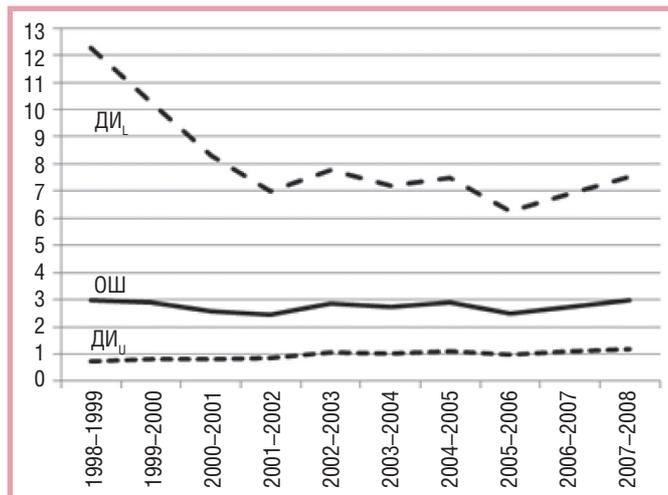


Рис. 2. Значения ОШ и 95%-ные ДИ (ДИ<sub>1</sub>, ДИ<sub>2</sub>)  
Fig. 2. OR values and 95% confidence limits (CI<sub>1</sub>, CI<sub>2</sub>)

2-й групп. В табл. 2 приведены значения 95% ДИ. Медиана ожидаемого времени жизни – значение времени за период наблюдения, при котором функция выживания составляет 0,5. Медиана ожидаемого времени жизни и точка выживания 50% наблюдений совпадают, если до этого момента времени не зафиксировано цензурированных наблюдений (смертей). В табл. 2 во 2-й группе значение медианы не представлено, так как функция выживания к концу периода наблюдения имела значение >0,5.

Таким образом, данные табл. 2 убедительно свидетельствуют о том, что среднее время жизни для пациентов, получавших эпителиамин и базовую терапию (2-я группа), больше такового за период наблюдения для пациентов, получавших только базовую терапию (1-я группа).

При проведении анализа Каплана–Мейера для сравнения групп рассчитываются 3 теста:

1. Логранговый критерий (Logrank) принимает за нулевую гипотезу предположение, что выживаемость в группах равна. Для каждого момента времени производится расчет фактических и ожидаемых показателей выживаемости, которые затем сравниваются методом  $\chi^2$  с целью выявления статистически значимых различий между группами. Критерий выявляет различия, если

кривые выживаемости сразу расходятся и не пересекаются. Если же они будут пересекаться, то тест может вообще не выявить значимых различий. Тест оценивает каждый случай одинаково, поэтому способен выявлять поздние различия в большей степени по сравнению с другими критериями.

2. Критерий Бреслоу (Breslow) позволяет оценивать количество наблюдаемых случаев в группах риска развития исхода в каждый момент времени. При этом ранние случаи смерти имеют большее значение (вес) при оценке, чем поздние (так как группа риска уменьшается с течением времени), поэтому тест больше способен выявлять ранние межгрупповые различия.

3. Критерий Tarone–Ware позволяет проводить оценку квадратного корня из количества человек в группе риска. При этом поздние случаи смерти имеют большее значение (вес) при оценке, чем ранние (так как группа риска уменьшается с течением времени). Поэтому данный критерий в большей степени способен выявлять поздние межгрупповые различия [8, 10].

В табл. 3 представлены результаты применения 3 тестов, которые дают практически одинаковую значимость. Уровни значимости по всем 3 критериям (логранговый критерий –  $p=0,015$ ; тест Бреслоу –  $p=0,016$ ; тест Tarone–Ware –  $p=0,015$ ) свидетельствуют о нали-

Статистические характеристики для времени дожития

Таблица 2

Statistical characteristics of survival time

Table 2

Группа	Среднее		Медиана					
	оценка	ошибка	границы 95% ДИ		оценка	ошибка	границы 95% ДИ	
			нижняя	верхняя			нижняя	верхняя
1-я (пациенты, получавшие базовую терапию)	11,225	0,664	9,923	12,527	12,000	2,372	7,351	16,649
2-я (пациенты, получавшие эпителиамин и базовую терапию)	13,128	0,539	12,071	14,185	–	–	–	–

Результаты сравнения функции дожития между группами

Таблица 3

Table 3

Comparison of survival function between the groups

Тест	$\chi^2$	df	p
LogRank (Mantel–Cox)	5,892	1	0,015
Breslow (Generalized Wilcoxon)	5,816	1	0,016
Tarone–Ware	5,888	1	0,015

Примечание. df (degree of freedom) – число степеней свободы.

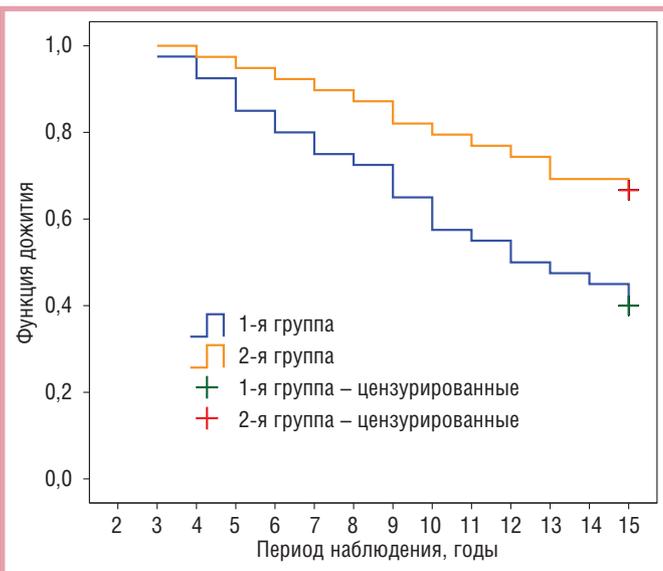


Рис 3. Функция дожития  
Fig. 3. Survival function

чи статистически значимых различий в выживаемости между группами.

Результаты, представленные на рис. 3, демонстрируют различия кривых дожития для разных групп.

Таким образом, можно сделать важный вывод, что применение 3 тестов статистического анализа, позволяющих оценивать различия в группах с небольшим числом пациентов, показало однозначные статистически значимые различия между пациентами группы с базовой терапией и пациентами, получавшими дополнительно эпителин. Результаты статистического анализа свидетельствуют о безусловной эффективности эпителина по показателю снижения смертности в данном 15-летнем исследовании. Следует также указать на полное отсутствие побочных эффектов при введении пациентам эпителина на протяжении исследования.

\*\*\*

Авторы статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## Литература/Reference

1. Бюль А., Цефель П. SPSS: Искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. СПб: Диа Софт ЮП, 2005; 608 с. [Buyul A., Zöfel P. SPSS: The Art of Information Processing. Analysis of statistical data and restoration of hidden patterns. St. Petersburg: Dia Soft UP, 2005; 608 (in Russ.).]
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М: Практика, 1999; 459 с. [Glants S. Biomedical statistics. M: Praktika, 1999; 459 (in Russ.).]
3. Григорьев С.Г., Корнеев А.А., Попович И.Г. Выбор метода математико-статистического доказательства эффективности пептидного препарата эпифиза. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики*. 2019; 4: 115–26 [Grigoriev S.G., Korneyev A.A., Popovich I.G. Choice of the method of mathematical and statistical proof of the efficacy of the pineal peptide preparation. *Modern problems of healthcare and medical statistics*. 2019; 4: 115–26 (in Russ.). DOI: 10.24411/2312-2935-2019-10084]
4. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. и др. Пептидный геропротектор из эпифиза замедляет ускоренное старение пожилых людей: результаты 15-летнего наблюдения. *Бюлл экспер биол мед*. 2011; 151 (3): 343–7 [Korkushko O.V., Khavinson V.Kh., Shatilo V.B. et al. The peptide geroprotector from the pineal gland slows the accelerated aging of older people: the results of a 15-year observation. *Bull exp boil med*. 2011; 151 (3): 343–7 (in Russ.).]
5. Флейс Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций. М.: Финансы и статистика, 1989; 319 с. [Fleis J. Statistical methods for studying tables of proportions and proportions. M.: Finance and statistics, 1989; 319 (in Russ.).]
6. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Пептидные биорегуляторы и старение. СПб: Наука, 2003; 223 с. [Khavinson V.Kh., Anisimov V.N. Peptide bioregulators and ageing. St. Petersburg: Nauka, 2003; 223 (in Russ.).]
7. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб: РГПУ им. А.И. Герцена, 2014; 271 с. [Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Ryzhak G.A. Peptide geroprotectors – epigenetic regulators of physiological functions. St. Petersburg: A.I. Herzen State Pedagogical University, 2014; 271 (in Russ.).]
8. Шарашова Е.Е., Холматова К.К., Горбатова М.А. и др. Применение анализа выживаемости в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS. *Наука и Здравоохранение. Методология научных исследований*. 2017; 5: 5–28 [Sharashova E.E., Kholmatoва K.K., Gorbatova M.A. et al. Health Survival Analysis using the SPSS statistical software package. *Science and Health. Research Methodology*. 2017; 5: 5–28 (in Russ.).]
9. Khavinson V.Kh. Peptides and Ageing. *Neuroendocrin Lett Special Issue*. 2002; 23 (Suppl. 3): 144.
10. Karadeniz P.N., Ercan. I. Examining tests for comparing survival curves with right censored data. *SiT*. 2017; 18 (2): 311–28. Doi 10. 21307. <https://doi.org/10.21307/stattrans-2016-072>
11. Statsoft Survival Failure Time Analysis [site]. URL: <http://www.statsoft.com/Textbook/SurvivalFailure-Time-Analysis>

## THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF THE CLINICAL RESEARCH RESULTS ON THE PINEAL GLAND PREPARATION (EPITHALAMIN)

**E. Vershinina**<sup>1,2</sup>; **G. Safarova**<sup>2</sup>, Doctor of Biological Sciences; **I. Popovich**<sup>3</sup>, Doctor of Biological Sciences; Professor **V. Khavinson**<sup>1,3</sup>, Corresponding Member of RAS  
<sup>1</sup>Pavlov Institute of Physiology RAS, Saint Petersburg  
<sup>2</sup>Institute for Problems of Regional Economics, RAS, Saint Petersburg  
<sup>3</sup>Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology

The paper presents the mathematical processing results of the data obtained from a clinical research on the effectiveness of a peptide preparation isolated from the pineal gland of calves – Epithalamin – in the elderly. The methods used for the statistical analysis suggest that administration of Epithalamin contributes to a statistically significant reduction in the patients' mortality as compared to the control group. These data are an important fact and an objective logical continuation of many years of experimental studies of the effect of the peptide preparation of the pineal gland on various indicators of aging and carcinogenesis in animals.

**Key words:** clinical research, peptides, epithalamin, methods of mathematical statistics.

**For citation:** Vershinina E., Safarova G., Popovich I. et al. The statistical significance of the clinical research results on the pineal gland preparation (epithalamin). *Vrach*. 2020; 31 (9): 48–51. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-09-08>

**Об авторах/About the authors:** Vershinina E.A. ORCID: 0000-0002-8873-4409; Safarova G.L. ORCID: 0000-0003-0289-7977; Popovich I.G. ORCID: 0000-0002-9937-025X; Khavinson V.Kh. ORCID: 0000-0001-7547-7725