

# Interpretacija raziskav v biomedicini



*doc. dr. Igor Locatelli, mag. farm.*

Katedra za socialno farmacijo  
Univerza v Ljubljani- Fakulteta za farmacijo

# Interpretacija....

---

Lord Rutherford famously said that 'If your experiment needs statistics, you ought to have done a better experiment', and also concluded that 'All science is either physics or stamp collecting'. Unfortunately in medicine, statistics is essential and as everyone knows, Benjamin Disraeli claimed that there are 'Lies, damned lies, and statistics'. Thus, it is important to review any study with extreme caution to try to identify the loopholes.

# Značilnosti in vzročnost v biomedicini

---

- ❑ Statistična značilnost (testirana skupina je boljša od kontrolne skupine)
- ❑ Klinična značilnost (učinek testirane skupine je klinično bolj pomemben od kontrolne)
- ❑ Vzročna povezava (ali je kajenje vzrok za nastanek pljučnega raka)

# Potek raziskav

---

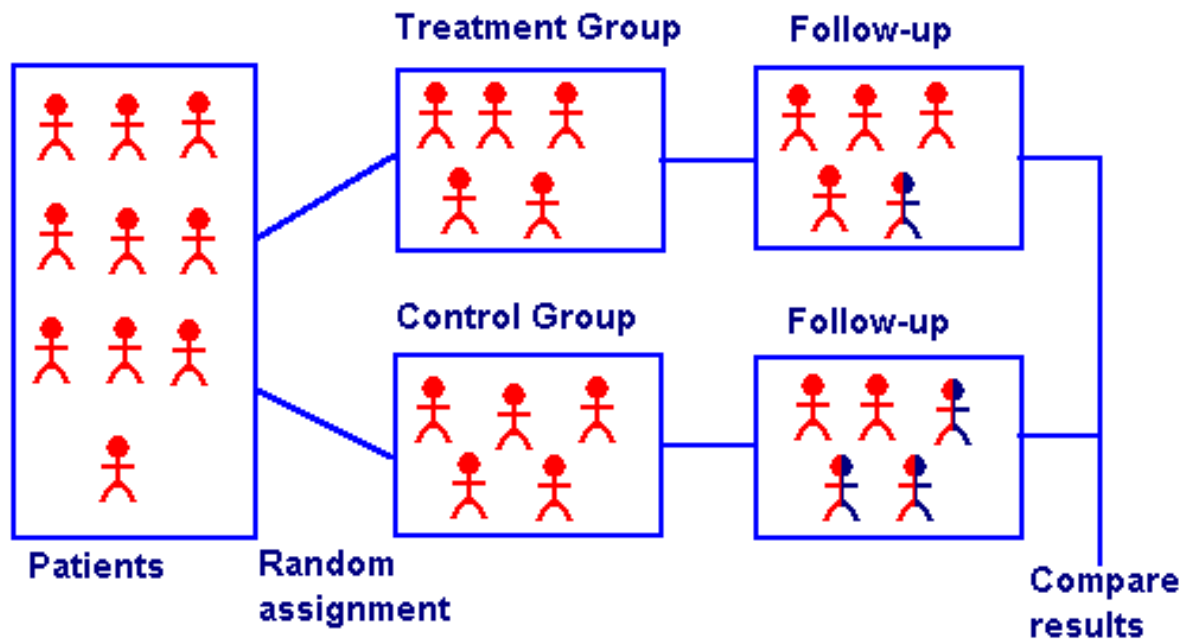
- **Idejno načrtovanje ali oblikovanje zasnove raziskave (designing).**
  - Postavitev raziskovalnega vprašanja/problema.
  - Odločitev o vrsti raziskave.
- Načrtovanje izvedbe raziskave (planning).
- Organiziranje izvedbe raziskave oziroma priprave na njeno izvedbo (organizing).
- Izvajanje raziskave (implementing, conducting) – zbiranje podatkov in njihova analiza.
- Predstavitev izsledkov (presentation of the results).

# Vrste kliničnih raziskav

## Randomizirane kontrolirane klinične raziskave

---

### Randomized Controlled Studies

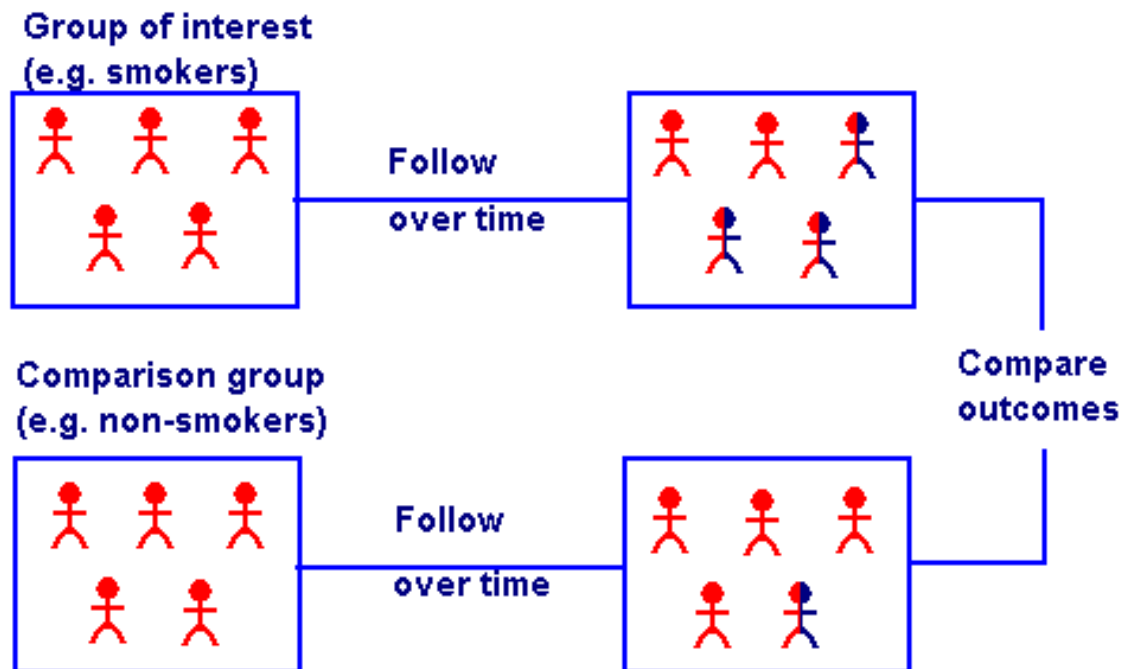


# Vrste kliničnih raziskav

## Prospektivne kohortne raziskave

---

### Cohort Studies

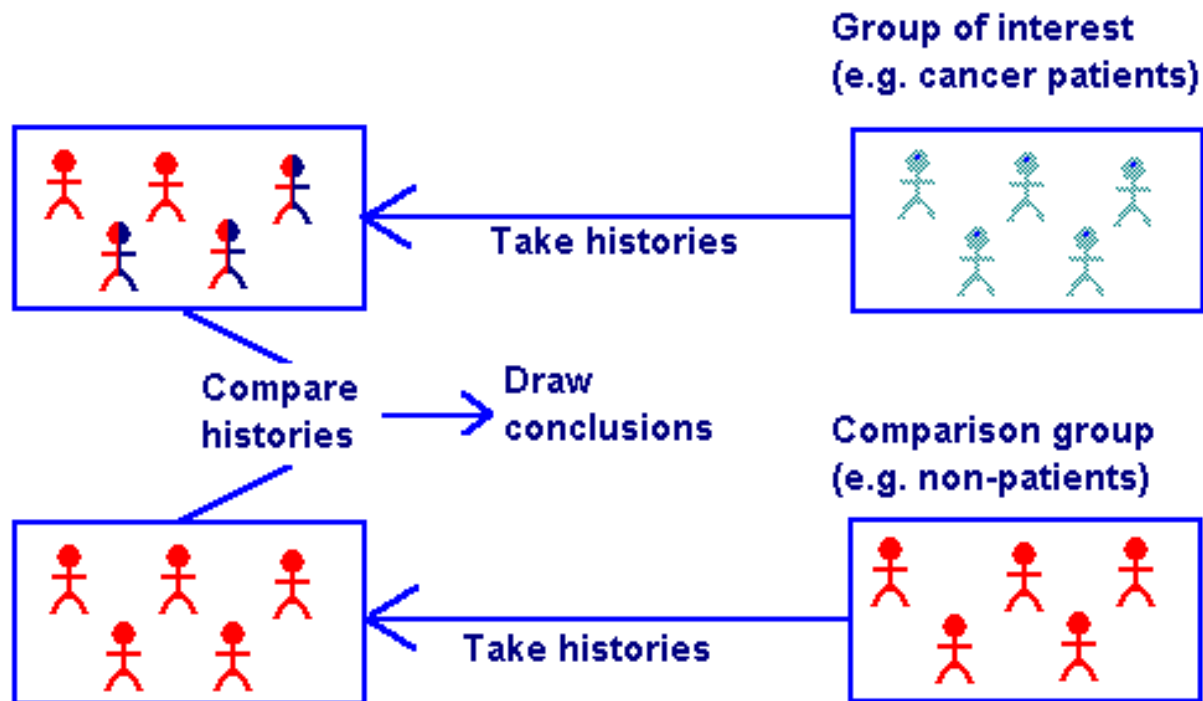


# Vrste kliničnih raziskav

## Raziskava primerov s kontrolami

---

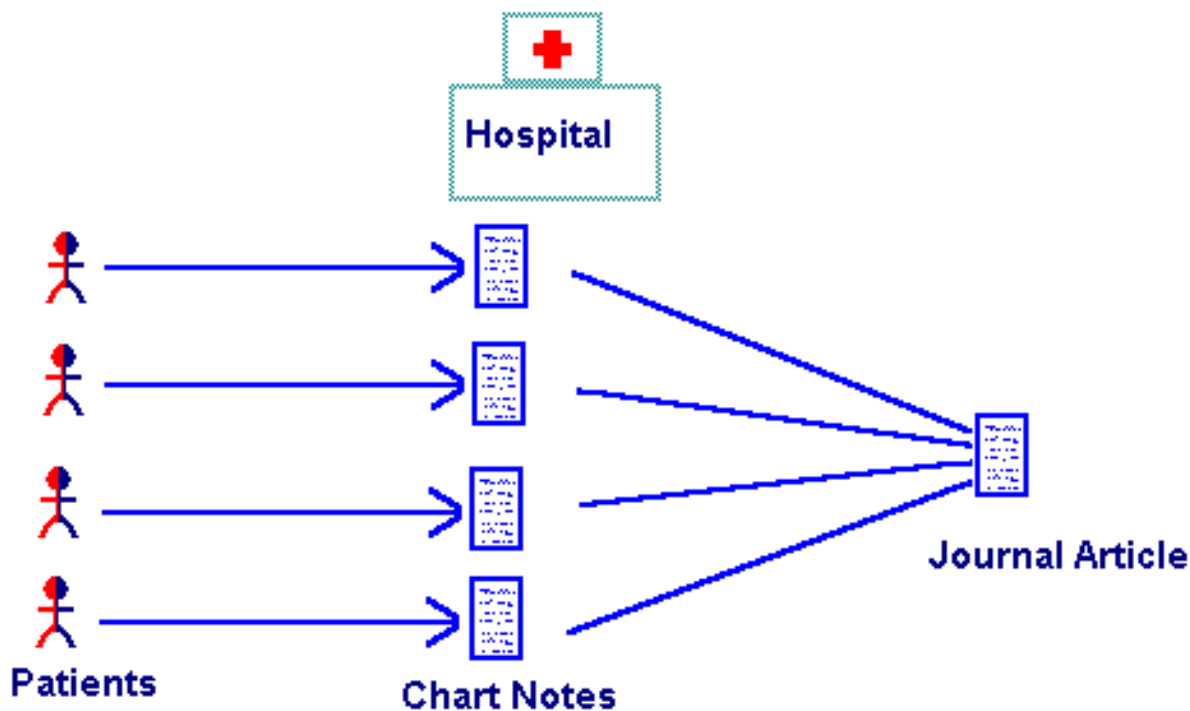
### Case Control Studies



# Raziskava serije primerov in raziskava poročila primerov

---

## Case Series and Case Reports



---

**Ni kontrolne skupine**



# Potek raziskav

---

- Idejno načrtovanje ali oblikovanje zasnove raziskave (designing).
- **Načrtovanje izvedbe raziskave (planning).**
- Organiziranje izvedbe raziskave oziroma priprave na njeno izvedbo (organizing).
- Izvajanje raziskave (implementing, conducting) – zbiranje podatkov in njihova analiza.
- Predstavitev izsledkov (presentation of the results).

# Načrtovanje izvedbe raziskave

---

- *Postavitev raziskovalnega vprašanja/problema*
- Protokol statistične analize v raziskavi:  
Namen? Vrsta statistične analize?  
Kakšne podatke potrebujemo? Koliko?

# Sample Size and Power

---

- Sample size ALWAYS requires the investigator to make some assumptions
  - How much better **do you expect** the experimental therapy group to perform than the standard therapy groups?
  - How much variability **do we expect** in measurements?
  - What **would be** a clinically relevant improvement?
- The statistician CANNOT tell you what these numbers should be (unless you provide data)
- It is the responsibility of the clinical investigator to define these parameters

# Kaj vpliva na moč preizkusa

---

- "effect size" – pričakovan učinek neke spremembe oz. nekega dejavnika tveganja – pričakovani klinični učinek
- Variabilnost učinka – pomen homogenosti vzorca in randomizacije
- Statistični parameter:
  - Stopnja tveganja, ponavadi 5%
  - Vrsta statističnega testa
- Velikost vzorca: čim večji Kolikšen?

# Programi za izračun velikosti vzorca in moči preizkusa

---

PS: Interactive program for performing power and sample size calculations:

<http://biostat.mc.vanderbilt.edu/twiki/bin/view/Main/PowerSampleSize>

On-line izračun

<http://www.stat.uiowa.edu/~rlenth/Power/>

# Primer: Določanje vsebnosti zdravilne učinkovine

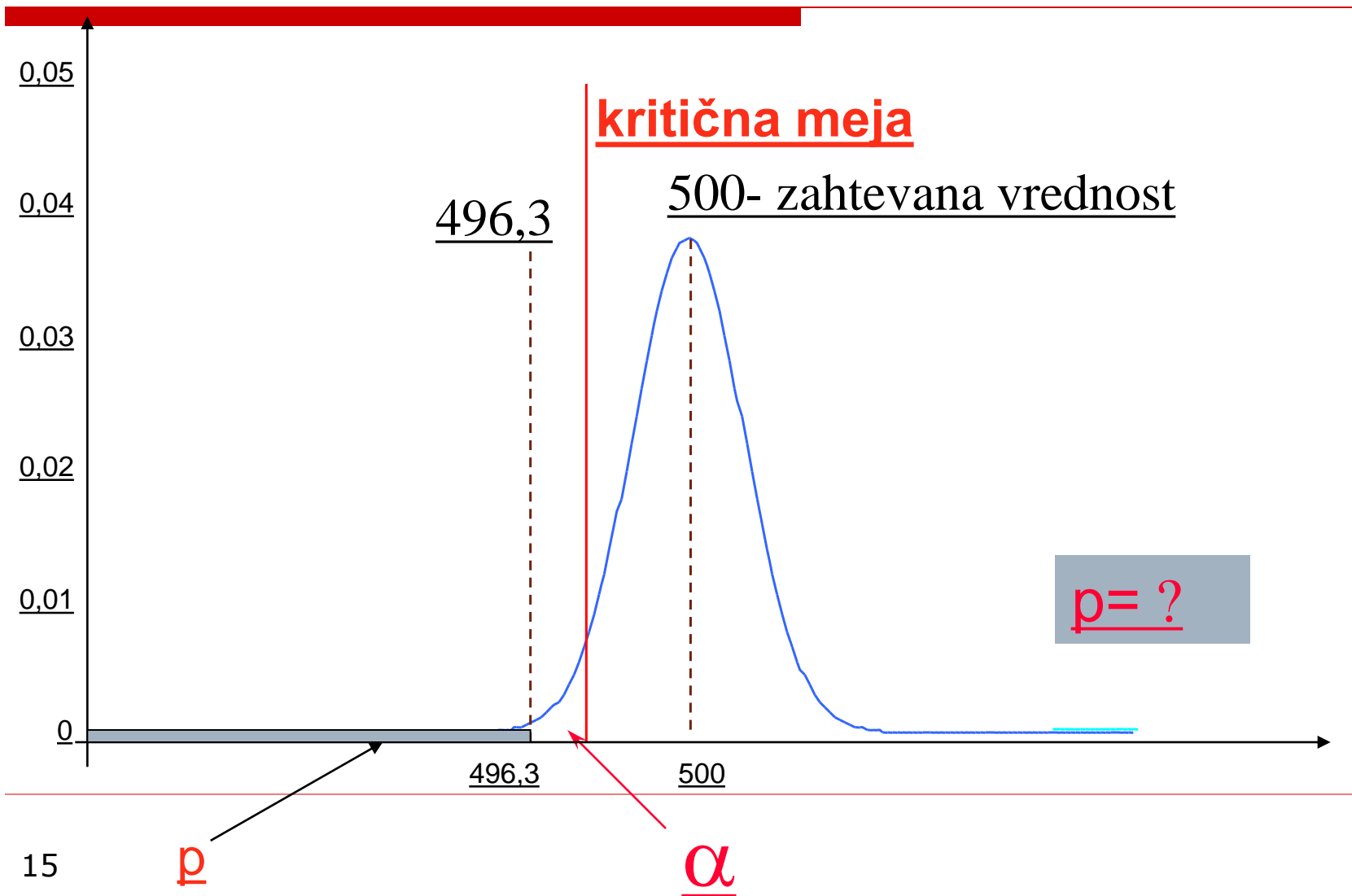
---

V tablete vgradimo učinkovino A. Dve leti po izdelavi tablet pomerimo vsebnost te učinkovine, ki ne sme biti manjša kot 500 mg.

Vzeli smo 49 tablet in določili povprečno vsebnost učinkovine in standardno deviacijo

Ali tablete ustrezajo zahtevi, da je vsebnost učinkovine A še vedno 500mg?

# Grafični prikaz



$$H_0: \mu \geq \mu_0 \quad H_1: \mu < \mu_0$$

$$z_{\text{exp}} = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{\sigma} \sqrt{N}$$

**S**

Splošna enačba:

$$z = \frac{\bar{x} - \mu_0}{\sigma} \sqrt{N}$$

$$z_{\text{exp}} = \frac{|496.3 - 500|}{9.50} \sqrt{49} = 2.713$$

$$z_{\text{tab}} = z_{\alpha} = 1.645$$

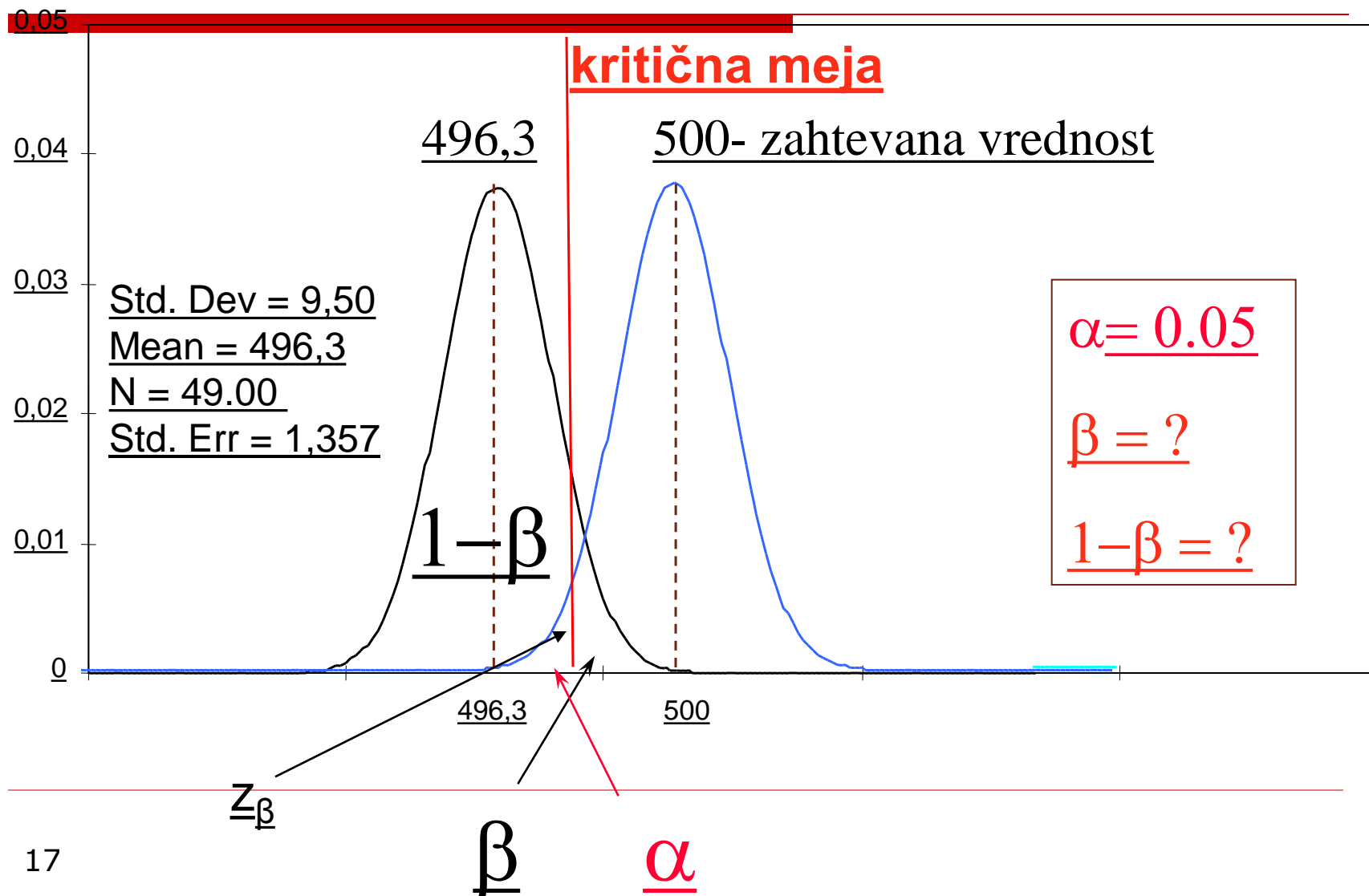
$\alpha = 0,05$  Izberemo!

$$z_{\text{exp}} > z_{\text{tab}}, p < \alpha$$

**S**: signifikantnost oz. značilnost



# Moč preizkusa



# Moč preizkusa ( $\alpha=0,05$ )

KRITIČNA MEJA PRI  $\alpha=0,05$ :  $500 - 1,645 \times \frac{9,50}{\sqrt{49}} = 497,768$

$$z_{\beta} = \frac{497,768 - 496,3}{9,50} \times \sqrt{49} = 1,0813$$

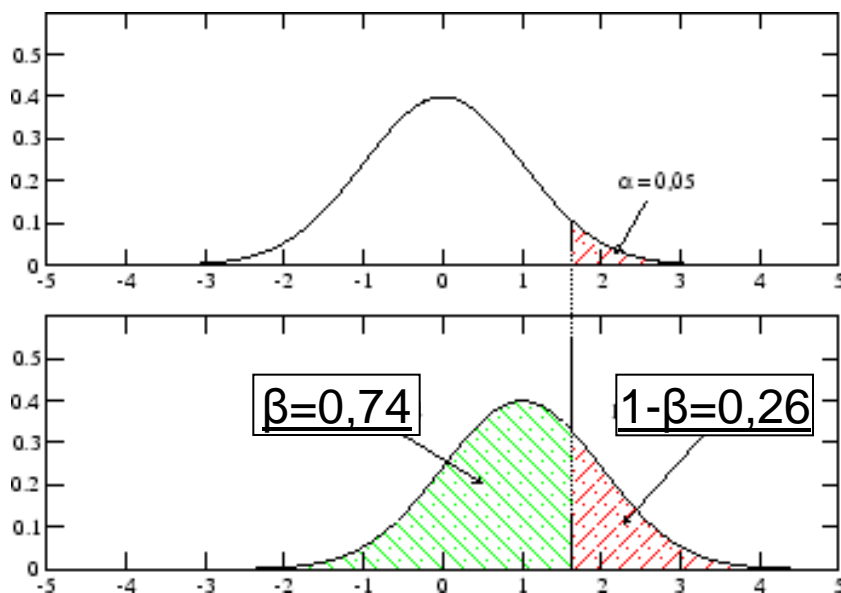
$z_{\text{TAB pri } \alpha=0,05}$

$$F(z_{\beta}) = F(1,08) = 0,8599$$

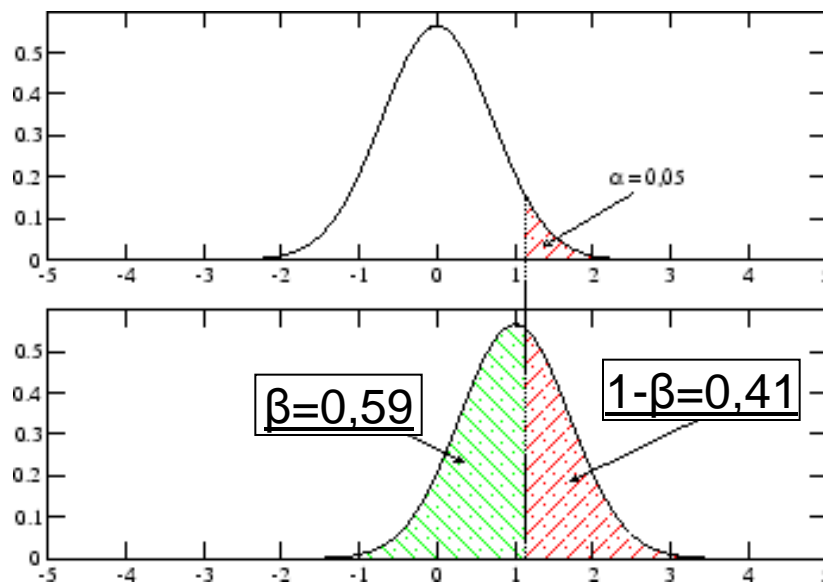
MOČ PREIZKUSA  $(1 - \beta) = 0,8599$

# Vpliv velikosti vzorca na moč preizkusa

Porazdelitev povprečij vzorcev, vzetih iz dveh populacij z enako varianco, vendar različnimi povprečji in manjšo oz. večjo velikostjo vzorca.



MANJŠA VELIKOST VZORCA



VEČJA VELIKOST VZORCA

## Določanje vsebnosti zdravilne učinkovine: koliko tablet potrebujemo?

---

- Dovoljeno odstopanje: 5 mg
- Variabilnost vsebnosti: 9.5 mg
- Z-test za en vzorec,  $\alpha=0,05$
- Moč preizkusa: 0.8

# Izračun na osnovi z-testa

---

KRITIČNA MEJA PRI  $\alpha=0,05$ :

$$500 - 1,645 \times \frac{9,50}{\sqrt{n}} = x$$

$$z_{\beta} = \frac{x - 495}{9,50} \times \sqrt{n}$$

$Z_{\text{TAB pri } \alpha=0,05}$

Moč preiskusa =  $F(z_{\beta}) = 0,8$   
->  $z_{\beta} = 0.84$

$$\frac{0.84 * 9.5}{\sqrt{n}} = 500 - 1.645 * \frac{9.5}{\sqrt{n}} - 495$$

$$0.84 * 9.5 + 1.645 * 9.5 = (500 - 495) * \sqrt{n}$$

$$n = \left( \frac{9.5 * (0.84 + 1.64)}{5} \right)^2 \sim 22$$

<http://www.stat.uiowa.edu/~rlenth/Power/>

The screenshot shows a software window titled "One-sample...". It contains several input fields and sliders for statistical parameters:

- sigma**: A dropdown menu set to "Value" and a text box containing "9.5".
- True  $|\mu - \mu_0|$** : A dropdown menu set to "Value" and a text box containing "5".
- n = 24**: A slider on a scale from 0 to 50, with a vertical marker at 24.
- power = .8041**: A slider on a scale from 0 to 1, with a vertical marker at approximately 0.8041.
- Solve for**: A dropdown menu set to "n".
- alpha**: A dropdown menu set to "0.05" and an unchecked checkbox labeled "Two-tailed".

# Potek raziskav

---

- Idejno načrtovanje ali oblikovanje zasnove raziskave (designing).
- Načrtovanje izvedbe raziskave (planning).
- Organiziranje izvedbe raziskave oziroma priprave na njeno izvedbo (organizing).
- **Izvajanje raziskave (implementing, conducting) – zbiranje podatkov in njihova analiza.**
- Predstavitev izsledkov (presentation of the results).

# Potek statistične analize podatkov

---

- *Postavitev raziskovalnega vprašanja/problema*
- *Protokol statistične analize v raziskavi: Namen? Vrsta statistične analize? Kakšne podatke potrebujemo?*
- Zbiranje podatkov.
- Kodiranje podatkov, vnos, kategorizacija in čiščenje podatkov.
- Izvedba analize
- Interpretacija rezultatov
- Refleksija
  - Kaj novega smo odkrili?
  - Kaj so naši predlogi/nasveti?
  - Kakšne so omejitve naše analize?



# Izstopajoči podatki (osamelci)

---

- Posledica napake

- preiskovalca,
- prostovoljca,
- meritve (!),
- oznake,
- vnosa,
- izračuna,

če to potrdimo potem tak podatke izključimo, ker je podatek pristranski – BIASED.

- Posledica variabilnosti biološkega parametra v populaciji ali naključne napake meritve potem izstopajočega podatka ne smemo izključiti.

# Pristranskost in naključna napaka

---

Razlikovati moramo med **pristranskostjo** oz. sistematično napako, ki vodi do neveljavnosti rezultatov in **naključnimi napakami**, ki vodijo v manjšo natančnost ocene vrednosti opazovanih pojavov.

# Vrste pristranskosti

---

## **1. Pristranskost izbire:**

napaka zaradi sistematičnih razlik v značilnostih med izbranimi in neizbranimi v raziskavo oziroma pristranskost, ki nastane zato, ker opazovane osebe niso reprezentativne za preučevano prebivalstvo; sem sodijo pristranskost nabora, pristranskost samoizbire (nesodelovanje v raziskavah) in pristranskost zaradi izgube iz sledenja.

## **2. Pristranskost razvrščanja**

vse tiste sistematične napake, ki se pripetijo ob merjenju pojava. Sem sodijo pristranskosti, kot so: subjektivnost izvajalca raziskave, anamnestična pristranskost in pristranskost napačne razvrstitve.

# Reševanje pristranskosti

---

Pristranskosti ne moremo popravljati v fazi analiziranja podatkov, prav tako tudi ne z večanjem števila opazovancev (praviloma).

Kako pa?

- z jasno opredeljeno raziskovano populacijo
  - z jasnimi vključitvenimi in izključitvenimi kriteriji
  - z jasno opredeljenimi "vzroki" in "posledicami",
  - z zagotavljanjem objektivnosti meritev,
  - z izobraževanjem izvajalcev raziskave,
  - z jasno napisanim načrtom raziskave (protokolom),
  - z randomizacijo, če je potrebna,
  - s preverjanjem orodij in instrumentov za zbiranje podatkov (umerjanje laboratorijskih aparatov, preverjanje vprašalnika s pilotno študijo...).
-

# Moteče spremenljivke

---

Če opazujemo povezanost med enim "vzrokom" in "posledico", se lahko zgodi, da je lahko povezanost, ki jo zasledimo, pomešana z učinkovanjem neke druge izpostavljenosti na isti izid.

# Moteče spremenljivke - primer

---

RAZISKOVALNO VPRAŠANJE:

Ali uživanje čezmernih količin alkohola  
veča tveganje za nastanek pljučnega raka?

**Alkohol**  
"vzrok"



**Pljučni rak**  
"posledica"

PREDPOSTAVKA:

raziskovalec opazi, da se pljučni rak pojavi  
pogosteje pri pivcih alkohola.

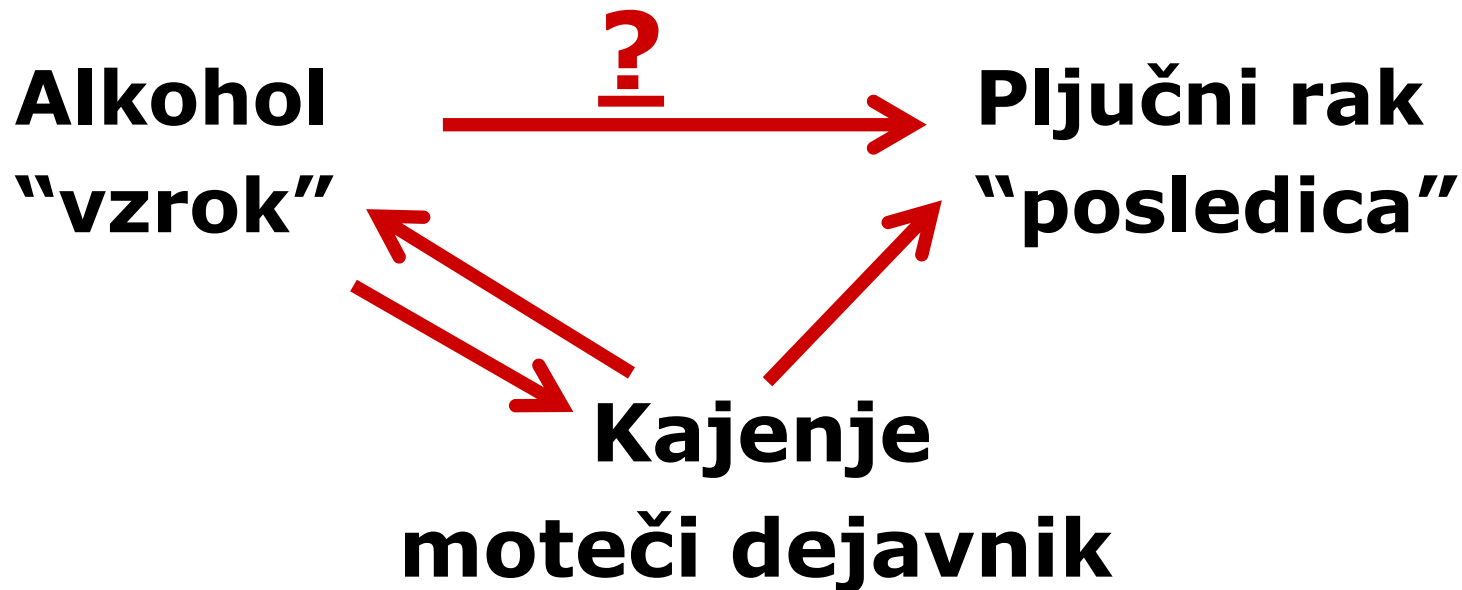
---

# Moteče spremenljivke - primer

---

PREDPOSTAVKA:

raziskovalec opazi, da se pljučni rak pojavi pogosteje pri pivcih alkohola.



---

## Observed Spurious Relationship\*

Amount of ice cream sold and deaths by drownings  
(Moore, 1993)

Size of left hand and size of right hand

Height of sons and height of daughters (Davis, 1985)

Ministers' salaries and price of vodka

Shoe size and reading performance for elementary  
school children

Number of doctors in region and number of people  
dying from disease

Number of police officers and number of crimes  
(Glass & Hopkins, 1996)

Number of homicides and number of churches

Number of storks sighted and the population of  
Oldenburg, Germany, over a six-year period (Box,  
Hunter, & Hunter, 1978)

Number of public libraries and the amount of drug use

Teachers' salaries and the price of liquor (Moore and  
McCabe, 1993)

Tea drinking and lung cancer

## Reason for the Relationship (the Third Variable)

Season: Ice cream sales and drownings tend to be high  
during the warm months of the year.

Genetics: The size of both hands is due to genetic makeup.

Genetics: Heights of sons and daughters are both due  
to their parents' genetic makeup.

Area (i.e., urban or rural): In urban areas, prices and  
salaries tend to be higher.

Age: Older children have larger shoe sizes and read  
better.

Population density: In highly dense areas, there are more  
doctors and more people die.

Population density: In highly dense areas, there are more  
police officers and more crimes.

Population density: In highly dense areas, there are more  
homicides and more churches.

Time: Both variables were increasing over time.

Time: Both were increasing during the 1970s.

Time: Both tend to increase over time.

Smoking: Tea drinkers have a lower risk only because  
they smoke less.



# Statistično sklepanje

---

- Izberemo vzorec (ali več vzorcev).
- Določimo statistiko.
- Posplošujemo z vzorca na populacijo.
- Ocenjevanje parametra
  - “Kolikšen je parameter v populaciji?”
  - Točkovna ocena parametra
  - Intervalna ocena parametra
- Testiranje hipotez

# Interval zaupanja

---

- Intervalna ocena populacijske vrednosti: ugotavljamo interval, znotraj katerega se nahaja populacijska vrednost (npr. aritmetična sredina) ang. “Confidence Interval”
- $CI = [ocena] \pm [kritična\ meja] * [stand.\ napaka]$

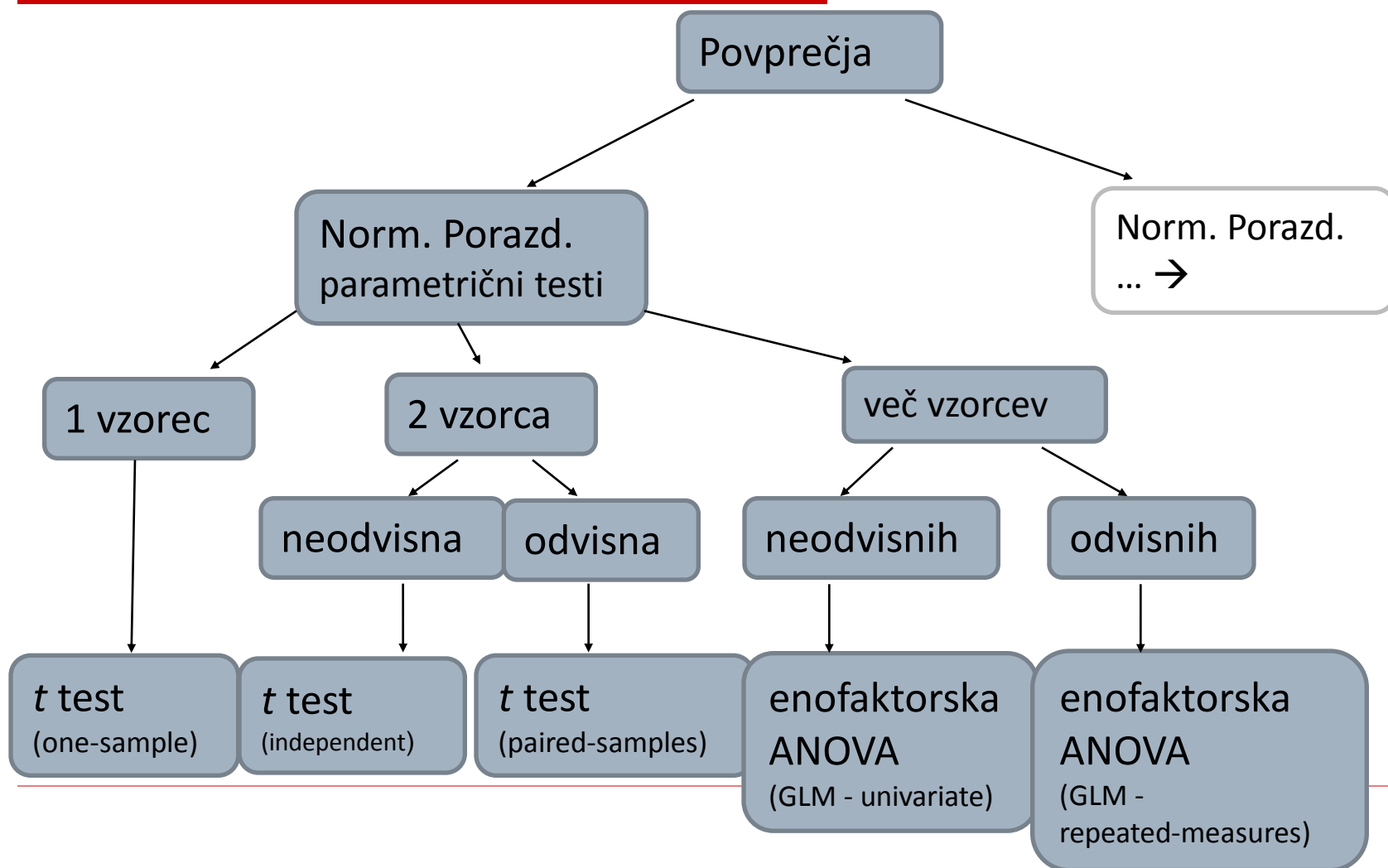
$$CI(95\%) = \bar{x} \pm 1,96 \times SE$$

# Potek testiranja hipotez

---

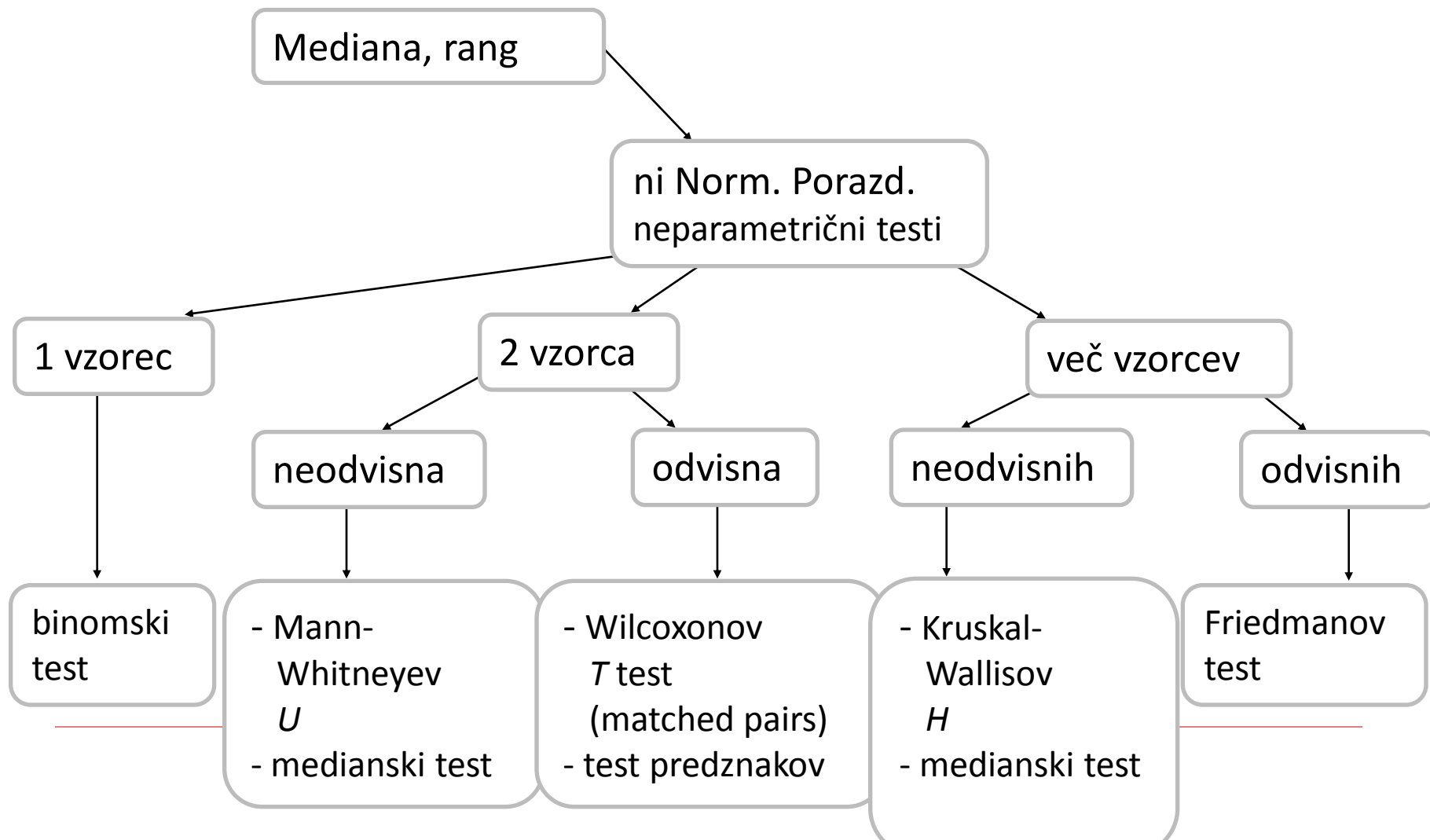
- Postavimo ničelno hipotezo:  $H_0$
- Postavimo alternativno hipotezo:  $H_1$  oz.  $H_a$
- Izberemo stopnjo tveganja  $\alpha$  oz. kritično mejo
- Iz podatkov vzorca izračunamo testno statistiko ( $z$ ,  $t$ ,  $\chi^2$  ...odvisno od tipa spremenljivk)
- Skušamo zavreči  $H_0$ :
  - Zavržemo  $H_0$ , potem lahko sprejmemo  $H_1$
  - Ne moremo zavreči  $H_0$ , tudi sprejmemo jo NE!
    - Razlike so nesignifikatne
    - Interpretacija v okviru preizkusa, velikosti vzorca, stopnje tveganja

# Nekateri parametrični testi



# Nekateri neparametrični testi

---



## Primerjava povprečij dveh vzorcev

Primerjava povprečja  
enega vzorca z neko vrednostjo

Poznana populacijska varianca  $\sigma$ ?

Velikost vzorca?

Velik  $>30$  ali  
poznana  $\sigma$

Z-test

Majhen  $\leq 30$  in  
 $\sigma$  nepoznana

T-test za  
en vzorec

Relacija med vzorcema?

Odvisna vzorca

Parni t-test

Neodvisna vzorca

Enakost varianc?

F- test

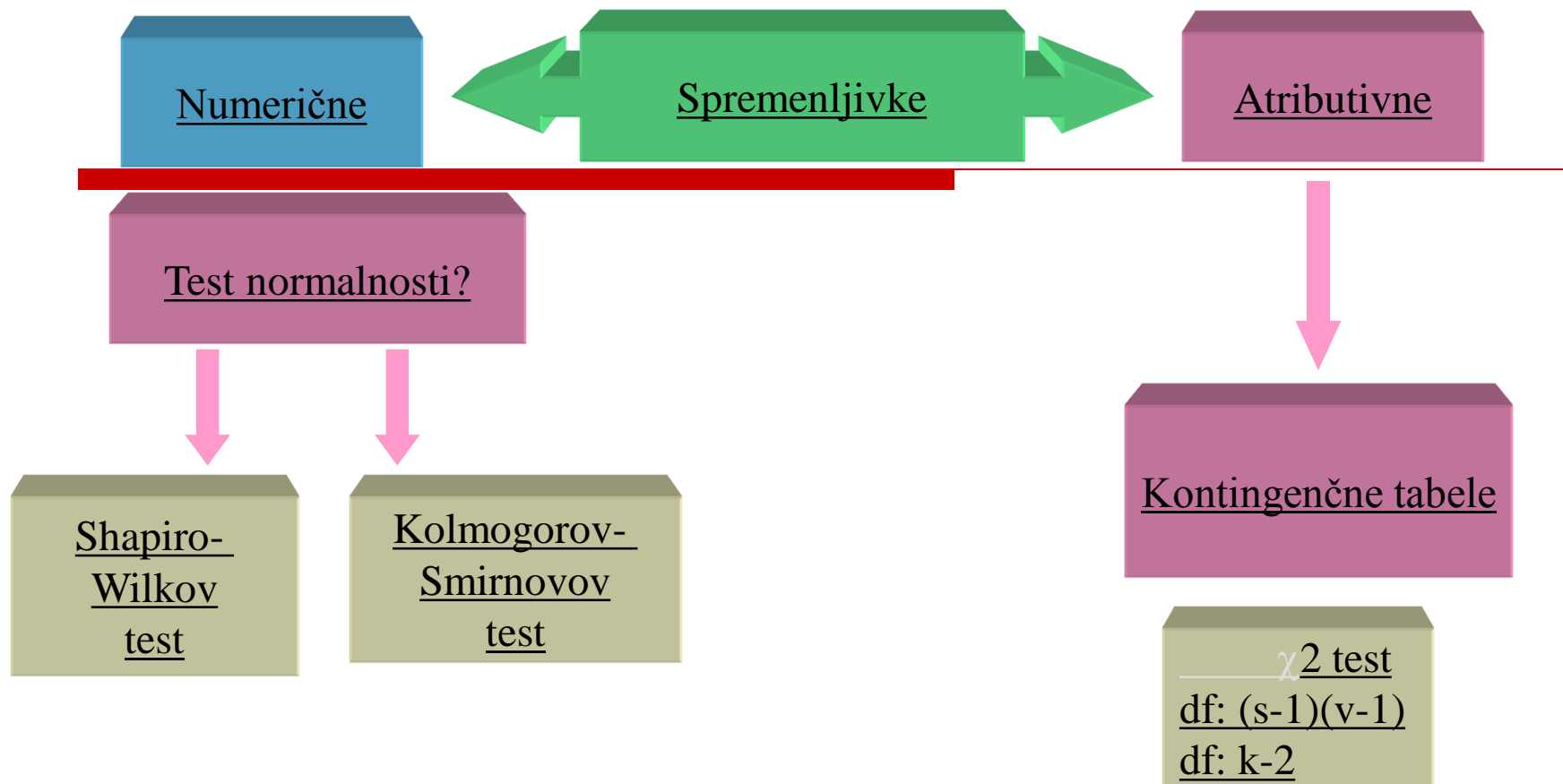
$\sigma_a = \sigma_b$

t-test  
(skupna  
varianca)

$\sigma_a \neq \sigma_b$

Fisher-  
Behrenov  
t-test

**Shema podaja le osnovni nabor statističnih parametričnih testov in velja ob predpostavki, da se proučevana spremenljivka porazdeljuje normalno!**



**Shema podaja le osnovni nabor statističnih testov!**

# Neparametrični testi - analogi

---

Parni t-test → Wilcoxon test vsote rangov

T-test za neodvisna vzorca → Mann-Whitney test

ANOVA → Kruskal-Wallis test, Friedmanov test

Pearsonova korelacija → Spearmanova korelacija

Test proporcev →  $\chi^2$  test,

Moč preizkusa je manjša.

Ne slonijo na predpostavki o normalnosti porazdelitve

Izračun temelji na rangih odvisne spremenljivke.



# Programi za statistično analizo

---

- MS Excel
- SPSS
- SAS
- R
- SigmaPlot
- ...

# Primer klinične raziskave: KAVA-ČAJ

---

## **Gustav III švedski kralj (1746-92)**

**Raziskovalna domneva:** Pitje kave povzroča smrt.

**Obravnavanji:** pitje kave oz. čaja 3x na dan

**Izvedba:** dva na smrt obsojena enojajčna dvojčka pomilosti, eden pije kavo, drugi čaj obsojenec pije kavo oz. čaj do smrti; smrt naj ugotovita dva neodvisna zdravnika.

**Rezultati:** Pivec čaja je umrl prvi, čeprav za tedanje čase pri častitljivi starosti 83 let.

**Sklep:** Kraljevi zdravniki so sklepali, da je čaj bolj škodljiv kot kava.

---

# Primer raziskave: skorbut

---

Ladijski zdravnik James Lind: »Skorbut povzroči več smrti angleški kraljevi mornarici kot španska in francoska mornarica skupaj.« Izvede poskus leta 1747, to je prvi zabeleženi klinični poskus.

**Raziskovalna domneva:** ustrezen dodatek prehrani »zdravi« skorbut.

---

# Primer raziskave: skorbut

---

**Obnavljanje:** dodatki osnovni prehrani

- jabolčnik
- kapljice vitriol (na osnovi žveplove kisline)
- pitje slane vode
- mešanica česen + gorčica + redkvice
- kis
- 2 pomaranči + 1 limona

**Izvedba:** Izbere 12 podobnih mornarjev, ki so oboleli za skorbutom. Razdeli jih v 6 skupin, po 2 mornarja na obravnavanje.

**Rezultati:** po 1 tednu zmanjka citrusov, stanje teh dveh mornarjev se izjemno izboljša. Nekaj pozitivnega vpliva tudi pri jabolčniku.

---

# Potek raziskav

---

- ❑ Idejno načrtovanje ali oblikovanje zasnove raziskave (designing).
- ❑ Načrtovanje izvedbe raziskave (planning).
- ❑ Organiziranje izvedbe raziskave oziroma priprave na njeno izvedbo (organizing).
- ❑ Izvajanje raziskave (implementing, conducting) – zbiranje podatkov in njihova analiza.
- ❑ **Predstavitev izsledkov (presentation of the results).**

# Interim analysis – vmesna analiza

---

- Ali je smiselno nadaljevati z raziskavo samo zato, ker je bilo tako načrtovano?
  - Od podatkov (analize) odvisna zgodnja zaustavitvev raziskave.
  - Vpliv informacij iz drugih, podobnih, raziskav.
  - Drugi razlogi za zaustavitvev:
    - Pojav resnih neželenih učinkov.
    - Slaba kakovost zbranih podatkov.
    - Nizka udeležba prostovoljcev.
    - Raziskovalno vprašanje ni več aktualno.
    - Vodenje prostovoljcev je slabo.
    - Pomanjkanje sredstev.
-

# Vpliv vmesne analize na rezultat

---

- Vključuje relativno majhno število podatkov
- Povečuje se verjetnost za napake 1. vrste
- Pristranskost se poveča, če se rezultate poda raziskovalcem.

# Previdnost pri interpretaciji

---

- Primarni in sekundarni cilj („endpoint“)
- Zajeta populacija v RTC:
  - ITT - analiza glede na namero zdravljenja
  - PP – analiza po protokolu
- Postavitev statističnih hipotez:
  - Superiornost
  - Neinferiornost (non-inferiority)
  - Enakost (equivalence)
- Univariatna ali multivariatna analiza
- Moteče spremenljivke



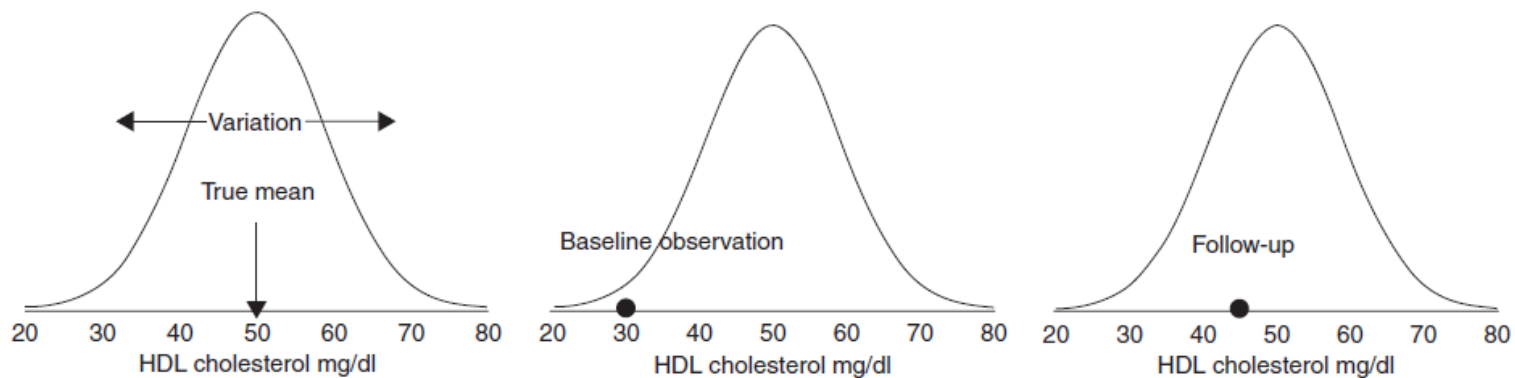
# ITT in PP analiza

---

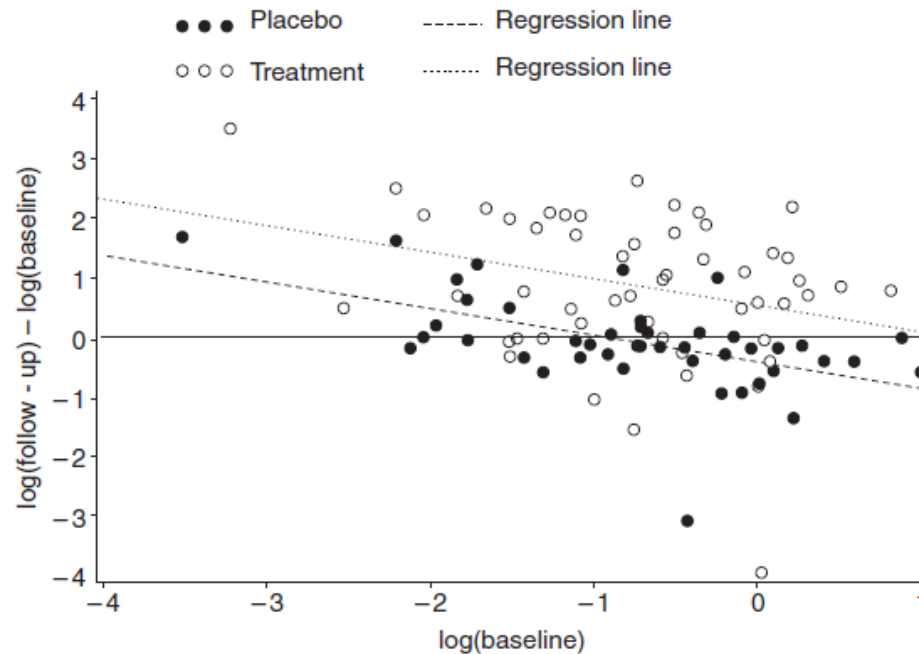
- RCT
- ITT - analiza glede na namero zdravljenja - ang. intention to treat analysis (analiziramo vse prostovoljce, ki so randomizirani)
- PP – analiza po protokolu - per protokol analysis (statistična analiza rezultatov kliničnih raziskav zbranih le za del preizkušancev; npr. le tisti, ki so končali raziskavo oz. so do časa sledenja ustrezali zahtevam v protokolu)

# Regression to the mean regresija proti povprečni vrednosti

---



**Figure 1** Graphical example of true mean and variation, and of regression to the mean using a Normal distribution. The distribution represents high density lipoprotein (HDL) cholesterol in a single subject with a true mean of 50 mg/dl and standard deviation of 9 mg/dl



**Figure 3** Scatter-plot of  $n = 96$  paired and log-transformed betacarotene measurements showing change ( $\log(\text{follow-up})$  minus  $\log(\text{baseline})$ ) against  $\log(\text{baseline})$  from the Nambour Skin Cancer Prevention Trial. The solid line represents perfect agreement (no change) and the dotted lines are fitted regression lines for the treatment and placebo groups

**Table 1** Analysis of change (follow-up result minus baseline) in log-transformed betacarotene measurements

Parameter	<i>n</i>	Mean change	95% CI change	<i>P</i> -value
<i>a) No cut-off (n = 96)</i>				
Placebo	44	-0.09	-0.33, 0.15	0.46 <sup>a</sup>
Treatment	52	0.85	0.51, 1.20	<0.0001 <sup>a</sup>
Difference (Treatment-Placebo)	96	0.94	0.51, 1.37	<0.0001
<i>b) Baseline cut-off &lt;0.5 μM/l (n = 49)</i>				
Placebo	23	0.24	-0.04, 0.53	0.09 <sup>a</sup>
Treatment	26	1.09	0.60, 1.57	0.0001 <sup>a</sup>
Difference (Treatment-Placebo)	49	0.84	0.27, 1.41	0.004

<sup>a</sup> Using a paired *t*-test.