Metody hodnocení a formulační dokumentace léčivých přípravků

Statistické vyhodnocování farmaceutických studií IV

Parametrické testy – dvouvýběrový U-test středních hodnot (nezávislé soubory)

- základní principy dvou-výběrového U-testu a t-testu jsou stejné jako u jedno-výběrového testu

- nulová hypotéza je předpoklad, že není rozdíl mezi středními hodnotami obou populací

- Dvouvýběrový t-test se od dvouvýběrového U-testu liší v tom, že se napřed musí provést F-test, aby se porovnaly odhadnuté rozptyly. Protože u U-testu jsou rozptyly populace známé, tento krok odpadá.
- Vzorec pro výpočet testovacího kritéria pro nezávislé soubory je:

$$U = \frac{\left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right| - \left|\mu_1 - \mu_2\right|}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$$

Parametrické testy – dvouvýběrový U-test středních hodnot (nezávislé soubory)

- Farmaceutická společnost vyrábí tablety pomocí běžného rotorového lisu v Praze a v Brně. Rozhodlo se, že se zhodnotí produktivita výroby mezi těmito lokalitami porovnáním průměrného počtu tablet vyrobených za minutu. Testy ukázaly, že průměrný počet vyrobených tablet za minutu v Praze je 5132,2 ± 95,0 a v Brně 5245,7 ± 96,8. Výsledky se získaly během výroby posledních 100 šarží tablet v Praze a v Brně. Protože velikost vzorku je dostatečně veliká, může být výpočet proveden pomocí U-statistiky:
- H_0: $\mu_1 = \mu_2$, H_A: $\mu_1 \neq \mu_2$, $\alpha = 5\%$
- výpočet testovacího kritéria: $\dfrac{5245{,}7 - 5132{,}2}{\sqrt{\dfrac{9025{,}0}{100} + \dfrac{9370{,}24}{100}}} = 8{,}37$

Parametrické testy – dvouvýběrový U-test relativní četnosti (nezávislé soubory)

- statistika:

$$U = \frac{|p_1 - p_2|}{\sqrt{\frac{p_0 q_0}{N_1} + \frac{p_0 q_0}{N_2}}}$$

  - p_1 a p_2 jsou relativní četnosti 1. a 2. souboru,
  - p_0 je společná relativní četnost, založena na předpokladu, že v obou souborech je stejná pravděpodobnost výskytu jevu A,
  - $p_0 = \dfrac{N(A)_1 + N(A)_2}{N_1 + N_2}$

Parametrické testy – dvouvýběrový U-test relativní četnosti (nezávislé soubory)

- **Př.** Při porovnání účinnosti léků A a B se zjistilo, že ve skupině 200 nemocných léčených lékem A se vyléčilo 120 nemocných ($p_1 = 0{,}6$). Ve stejně velké skupině léčených lékem B se vyléčilo 160 nemocných ($p_2 = 0{,}8$). Testuje se rozdíl výsledků na hladině významnosti $\alpha = 0{,}01$.

- H_0: p1 = p2, H_A: p1 ≠ p2, $p_0 = (120 + 160)/(200 + 200) = 0{,}7$

- výpočet testovacího kritéria:

- $U = \dfrac{0{,}6 - 0{,}8}{\sqrt{\dfrac{0{,}7 \cdot 0{,}3}{200} + \dfrac{0{,}7 \cdot 0{,}3}{200}}} = -4{,}364$

Parametrické testy – dvouvýběrový t-test (nezávislé soubory), F-test

- **jedním z předpokladu** dvouvýběrového t-testu je provedení zkoušky na rozdíl variability (rozptylu) - **F-test**

- testování rozdílu dvou rozptylů potom umožňuje zhodnocení přesnosti výsledků pokusů provedených např. za rozdílných podmínek

- testovací kritérium je veličina $F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$, ($s_1 > s_2$)

  , která má Fisherovo-Snedecorovo rozdělení

- a) $\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$, t = $\frac{\left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$ b) $\sigma_1^2 = \sigma_2^2$, t = $\frac{\left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)\cdot s_1^2 + (n_2 - 1)\cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$

Parametrické testy – dvouvýběrový t-test (nezávislé soubory), F-test

- Př.: Pro registrační účely se připravily dvě nové formulace antibiotického léčiva a podrobily se stabilitní zkoušce. Po provedení zkoušky se z každé formulace vybralo 20 vzorků a změřila se průměrná koncentrace léčiva. Výsledky:
- 1.formulace: 399,20 ± 25,02 mg
- 2.formulace: 396,25 ± 14,36 mg

- $F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{25{,}02}{14{,}36}$ = 1,74

- t = $\frac{399{,}2 - 396{,}25}{\sqrt{\frac{19 \cdot 25{,}02 + 19 \cdot 14{,}36}{38} \cdot \left(\frac{1}{20} + \frac{1}{20}\right)}}$ = 2,102

Δ

Parametrické testy – párový t-test

- porovnávají se páry naměřených hodnot získaných dvěma měřeními na jednom výběrovém souboru
- výpočet testovacího kritéria: t = $$\frac{\left|\bar{\delta} - \Delta\right|}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$
  - kde $\bar{\delta}$ je průměrný rozdíl párových dat, s je směrodatná odchylka průměrného rozdílu a Δ je hodnota průměrného rozdílu dat daná nulovou hypotézou (hypotetický průměrný rozdíl), většinou = 0
- **Př.** Studoval se rozdíl biologické dostupnosti nového léčivého přípravku s již zavedeným přípravkem. Testovalo se na 6 zvířatech, z nichž se každému podaly s dostatečným časovým odstupem oba přípravky (A a B) a změřily se hodnoty AUC

Neparametrické metody

- Podle povahy úlohy a popisované vlastnosti se rozlišují na:
  - testy rozdělení veličiny (**testy dobré shody**) – zda se pozorování dobře shodují s předpokládaným rozdělením (Pearsonův test dobré shody a test Kolmogorova a Smirnova). Kromě toho existují testy zaměřené jen na určité rozdělení.
  - **test shody rozdělení veličiny ve dvou populacích** - test Kolmogorova a Smirnova pro dva nezávislé soubory, testy iterací, znaménkové a pořadové
  - **test veličiny v jedné populaci** - testování velikosti mediánu (Wilcoxonův test), testování, zda posloupnost hodnot je náhodně uspořádaná (test pomocí iterací)
  - **test shody mediánů** - Wilcoxonův test pro dva nezávislé i závislé výběry (též označovaný jako test Manna a Whitneyho), znaménkový test pro dva závislé výběry, test Kruskala a Wallice
  - **test na pravděpodobnost** - znaménkový a binomický test pro jeden výběr, Fisherův faktoriální test a Pearsonův test pro srovnávání dvou výběrů

Neparametrické metody

- Uvedené testy se mohou rozdělit také na:
  - **testy ověřující shodu rozdělení**
  - **testy pořadové (mediánové):**
    - testy pro závislé soubory
    - testy pro nezávislé soubory
    - neparametrický porovnávací (post hoc) test
  - **test iterací**

Test shody rozdělení
– Pearsonův test dobré shody

- **Př.** Farmaceutická společnost vyvíjela nové orální pastilky. Provedla průzkum mezi 100 dobrovolníky, kteří se měli rozhodnout, které ze čtyř nabízených příchutí dají přednost. 26 z nich preferovalo medovou příchuť, 32 pomerančovou, 18 citrónovou a 24 mátovou příchuť. Statistickým testem se má rozhodnout, zda je či není jedna příchuť upřednostňována.

- Jedná se o nominální data, zvolí se χ^2-test a to na hladině významnosti 5%. Nulová hypotéza předpokládá, že ani jedna příchuť není zvýhodněna, proto pravděpodobnost pro každou třídu P_0 = 0,25. Protože N = 100, je předpokládaná četnost všech tříd $N \cdot P_o = 25$

- $\chi^2 = \sum \frac{(f_i - n \cdot p_j)^2}{n \cdot p_j} = \frac{(26-25)^2}{25} + \frac{(32-25)^2}{25} + \frac{(18-25)^2}{25} + \frac{(24-25)^2}{25} = 4$

Testy pořadové pro závislé soubory - znaménkový a Wilcoxonův test

- **Př.** Úkolem je porovnat na hladině významnosti 5% maximální plazmatickou koncentraci dvou přípravků stejného léčiva v krevní plazmě. Oba přípravky se s dostatečným časovým odstupem aplikovaly 12 osobám. V tabulce 5.7 jsou uvedeny maximální plazmatické koncentrace obou přípravků (A,B) v mg/l a jejich rozdíly (B-A). Pro lepší přehlednost jsou hodnoty rozdílů již seřazeny podle velikosti bez ohledu na znaménko. Tento krok, stejně jako význam hodnot v sloupcích p_1 a p_2 se vysvětlí při hodnocení Wilcoxonovým testem.

Testy pořadové pro závislé soubory - Friedmanův test

- neparametrický srovnávací test pro vícečetné závislé soubory

- **Př.** Společnost vyvíjela novou lékovou formu pro řízené uvolňování léčiva. Modelové léčivo kofein po uvolnění z lékové formy přechází do krevního oběhu a do slin. Šesti pacientům, kteří se podíleli na pokuse, se po perorální aplikaci lékové formy v daných časových intervalech odebíralo předepsané množství slin, ve kterých se kontrolovala koncentrace kofeinu. Výzkum měl potvrdit, že koncentrace kofeinu ve slinách je po dobu 8 hodin stálá.

- $Q = \frac{12}{n.k.(k+1)} \sum R^2 - 3.n.(k+1) = \left(\frac{12}{6*4*(4+1)}\right)*\left(24^2+18^2+8^2+10^2\right)-3*6*(4+1)=16,4$

Testy pořadové pro nezávislé soubory - Mannův-Whitneyův test

- jedním z nejsilnějších neparametrických testů
- je považován za neparametrický doplněk parametrického dvouvýběrového t-testu

- **Př.** Při klinickém zkoušení se porovnávala biologická dostupnost dvou přípravků měřením dosaženého celkového množství léčiva v krevní plazmě. Jedné skupině dobrovolníků se podala tableta, ve které bylo léčivo v komplexu s cyklodextrinem a 2. skupině tableta s léčivem bez cyklodextrinu. Obě skupiny obsahovaly 12 pacientů. Z naměřených hodnot vyplynulo, že hodnoty 2. skupiny nemají normální symetrické rozdělení (výběrový průměr se výrazně liší od mediánu). Protože se porovnávají dva nezávislé soubory, vybral se neparametrický Mann-Whitneyův test. V tabulce se uvádí naměřené koncentrace obou skupin již seřazené do směsného výběru. Hodnoty napsané tučným písmem náleží 2. skupině. Jednotlivým hodnotám směsného výběru je přiřazeno pořadí (řádek P)

Testy pořadové pro nezávislé soubory - Mannův-Whitneyův test

$$U_1 = N_1 \cdot N_2 + N_1 \cdot (N_1 + 1) / 2 - R_1$$

$$U_2 = N_1 \cdot N_2 + N_2 \cdot (N_2 + 1) / 2 - R_2$$

- $U_m \leq U_{1-\alpha/2\,(n1,\,n2)}$

Testy pořadové pro nezávislé soubory - Kruskalův-Wallisův test

- neparametrická testovací metoda podobná jednofaktorové analýze rozptylu

- používá se pro porovnání 2 a více nezávislých souborů v případě, že nejsou splněné podmínky pro použití klasické parametrické analýzy rozptylu (především normalita souborů)

- **Př.** Porovnával se originální léčivý přípravek se svými třemi generiky. Každý přípravek obsahoval stejné léčivo ve stejné síle a lékové formě (tablety). Všechny přípravky se testovaly disoluční zkouškou, ve které se stanovovalo množství uvolněného léčiva na čase ze 6 tablet. Hlavním cílem studie bylo porovnání času potřebného k uvolnění 80% léčiva

Testy pořadové pro nezávislé soubory - Kruskalův-Wallisův test

$$SŠ = \frac{\left(\sum R_{př.A}\right)^2}{N_{př.A}} + \frac{\left(\sum R_{př.B}\right)^2}{N_{př.B}} + \frac{\left(\sum R_{př.C}\right)^2}{N_{př.C}} + \frac{\left(\sum R_{př.D}\right)^2}{N_{př.D}}$$

$$SŠ = \frac{(30)^2}{6} + \frac{(89)^2}{6} + \frac{(81)^2}{6} + \frac{(100)^2}{6} = 4230,3$$

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \times SŠ - 3(N+1)$$

$$H = \frac{12}{24(24+1)} * 4230,3 - 3(24+1) = 9,61$$