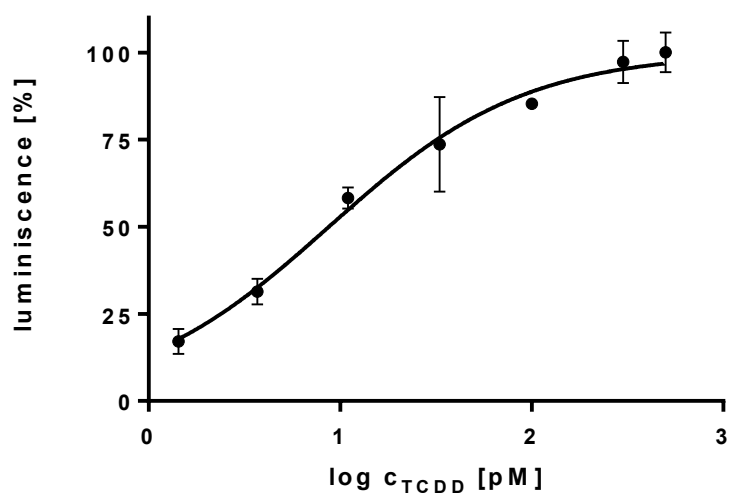


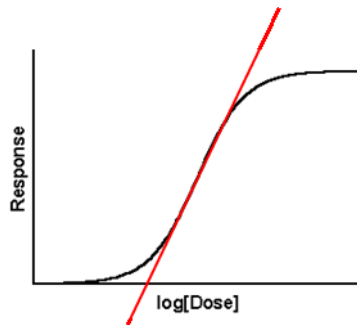
Hodnocení křivek dávka-odpověď



Po zlogaritmování koncentrace zkoumané látky

1. Způsob hodnocení -Lineární regrese (jednoduchý ale nepřesný)

Proložení exponenciálního modelu lineární částí křivky dávka-odpověď v excelu



2. Způsob hodnocení - Nelineární regrese

- zahrne celou křivku dávka-odpověď, pokryje i okrajové části, je zpravidla lepší/spolehlivější, hlavně pokud počítáme hodnoty blízko okrajových částí křivky (EC20, EC80) – tam mohou být větší odchylky od linearity
- Důležité je, jak podrobně je proměřená křivka dávka odpověď
- více bodů – lepší regrese

Pokud je křivka (hlavně její lineární část) detailně proměřená – neměl by být významný rozdíl ve výsledcích pro EC50 získaných různými postupy výpočtu

Software: **Graph Pad Prism**

Postup:

- Create a new data file
- New Project File
- XY
- Y: Enter 3 replicate values...
- Create

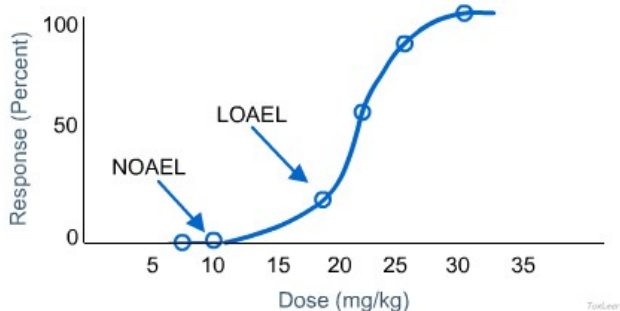
Kalibrace

- Graph Pad velmi vhodný pro analýzu křivek dávka-odpověď standardních látek – s odpovědí od 0 (blank) do 100% (stdmax)
- na ose X (sloupec X v tabulce Data) – zkopírovat log (pg/jamku)
- Data set – zkopírovat všechny hodnoty odpovědi kalibrace standardu vyjádřené jako % maxima - jednotlivá opakování, i pokud maximum je třeba na předposlední koncentraci, pokud tam na vyšších koncentracích není velký pokles či cytotoxicita
- Results – Nonlinear regression

Dose-response - stimulation - pro vzrůstající křivky dávka-odpověď

- log(agonist) vs. normalized response -- Variable slope (dobrá nápověda)
 - o zahrnuje v sobě už omezení – odpovědi od 0 do 100
- analogické výsledky dostaneme, pokud použijeme funkci log(agonist) vs. response -- Variable slope a nastavíme omezení
 - o constraints: TOP = 100, BOTTOM = 0
- Results – EC50, 95% konfidenční interval, R²
- Graphs – velmi dobře uvidíme kvalitu proložení křivky
- Jak získat jiné EC než EC50 – ECx
 - o Do dat pro analýzu zadat požadovanou hladinu odpovědi (např- 20 pro IC20)
 - o V záložce **FIT** analýzy křivky zaškrtnout políčko interpolate unknowns from standard curve – ve výsledcích se objeví vypočítaná logaritmovaná hodnota ECx
 - o Pomocí antilogaritmu vypočítat ECx – kolik pg standardu na jamku vyvolá tuto úroveň odpovědi
- Alternativa pro odečet hodnot z křivky – přepsat si do MS Excel obecnou rovnici křivky z nápovědy $Y=100/(1+10^{((\text{LogEC50}-X)*\text{HillSlope}))}$
 - o doplnit do ní vždy odpovídající parametry - LogEC50 a HillSlope z Table of Results pro tu danou křivku – a pak si z ní vypočítat, co potřebuji

Odhad LOEC a NOEC



- Převést data do sloupcové podoby (new table & graph – column)
- Vypočítat ANOVA + Dunnettův test (analyze- column analyses- one way ANOVA) se sloupcem dat pro kontrolu a sloupci u kterých předpokládáme, že by mohly odpovídat NOEC LOEC
- (správně je potřeba zkontrolovat normálnost rozložení a homogenitu rozptylů v rámci sloupců, pro toto stanovení ale máme málo dat)
- **zaznamenat NOEC a LOEC**