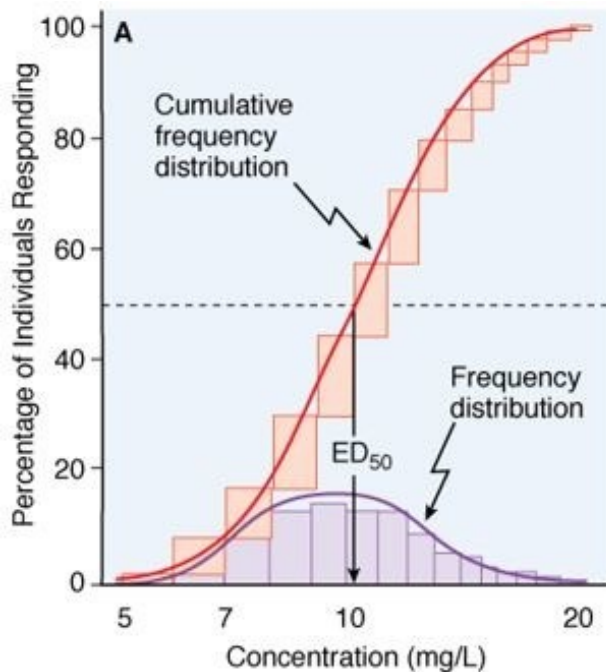


**Experimentální a aplikovaná  
toxikologie a ekotoxikologie–  
hodnocení křivek  
dávka-odpověď**

**Jiří Novák**

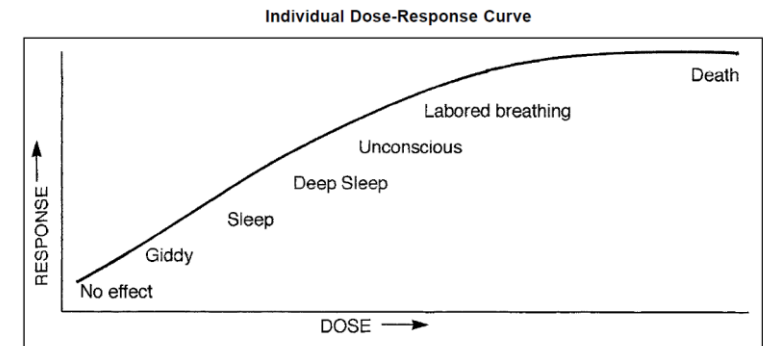
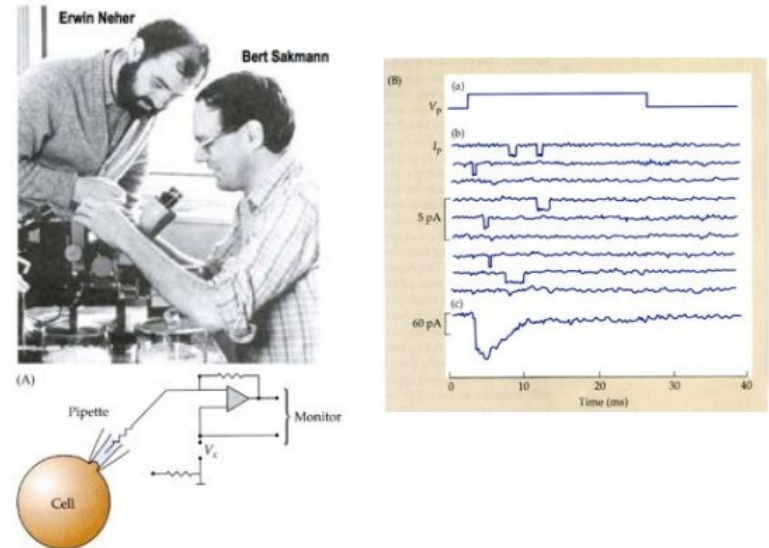
# Závislost dávka-odpověď

- Na řadě úrovní
  - Molekulární úroveň (receptory, kanály,...)
  - Organismální (odpověď ano/ne, kontinuální škála)
  - Populační



Source: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th Edition*: www.accessmedicine.com  
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

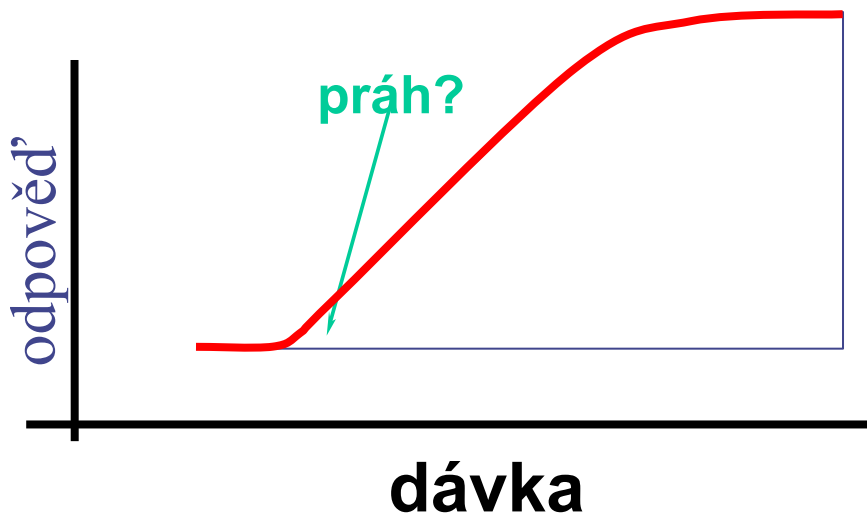
Invention of the Patch-clamp (1976) allowed single channel recordings



From: Marczewski, A.E., and Kamrin, M. *Toxicology for the citizen* (Figure 6). Institute for Environmental Toxicology, Michigan State University, reprinted with permission.

# Křivky dávka-odpověď

- Dávka vyjádřena např. mg/kg živé váhy, nebo mg/l
- Řada důležitých údajů:
  - Prahová hodnota toxicity/dávka bez toxických účinků
  - Dávka vyvolávající plný efekt (např. 100% toxicitu)

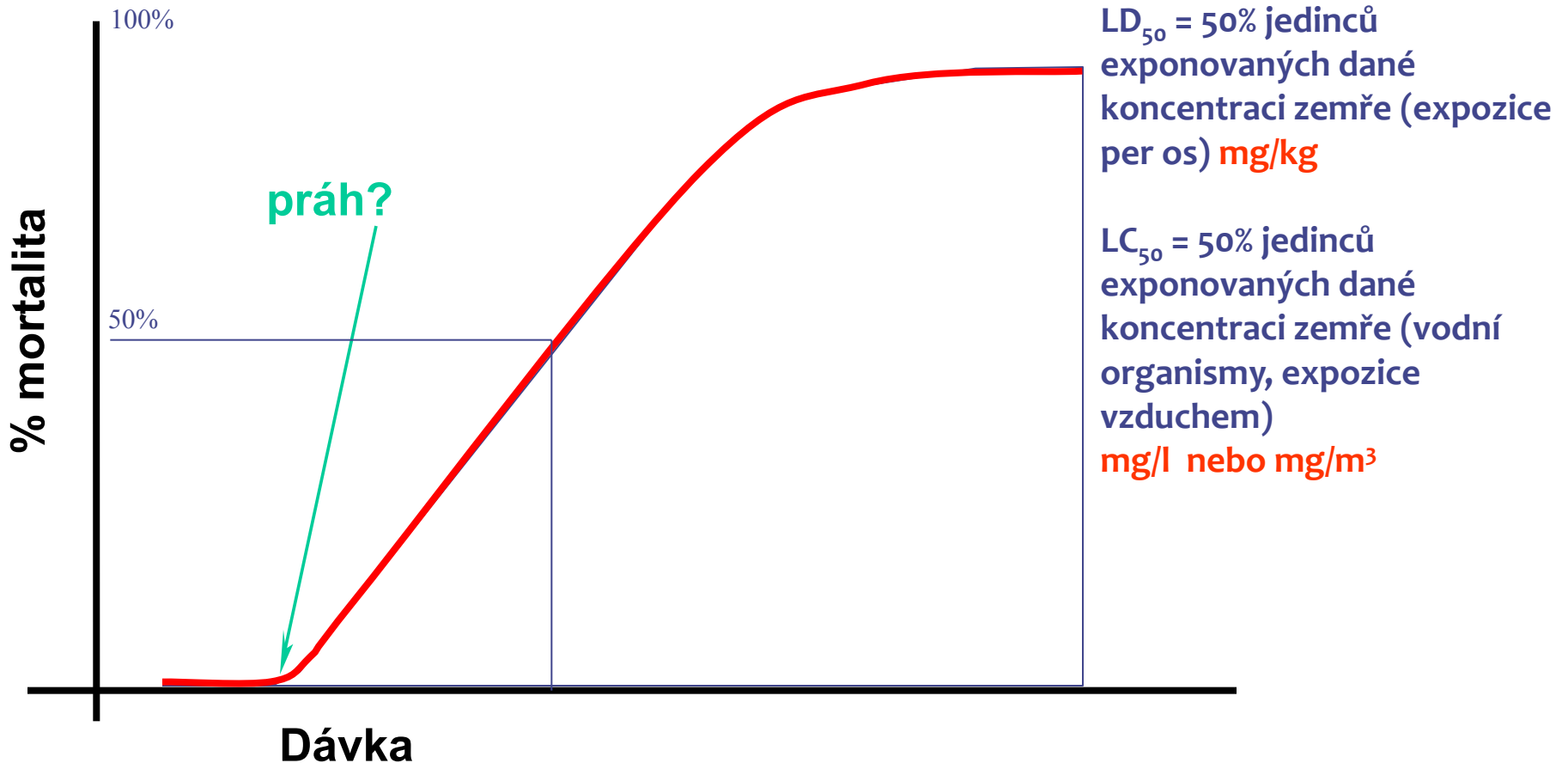


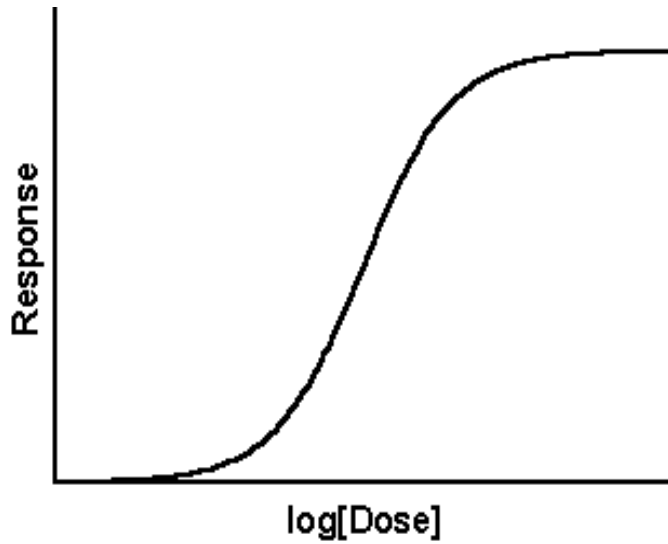
- Je možné se otrávit vodou?
- 10 g kofeinu vyvolává křeče a zvracení (1 šálek kafe ~ 150 mg kofeinu)
- NaCl ~ 250g smrtelná dávka

# Křivky dávka-odpověď

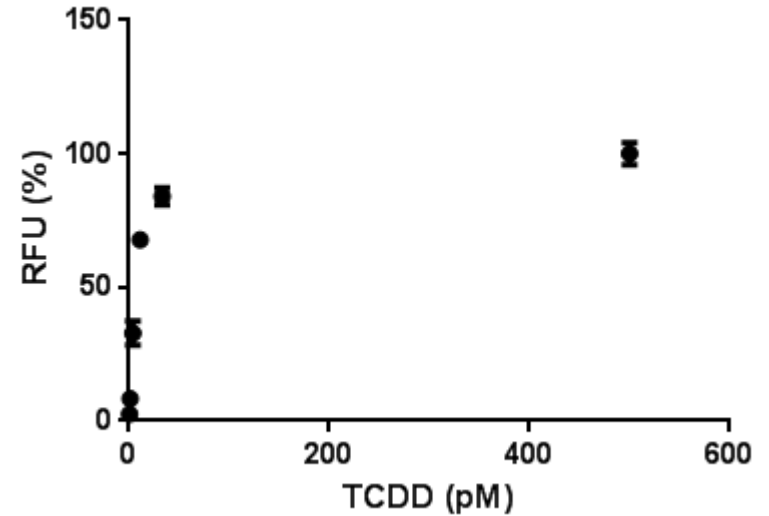
- Způsob redukce křivky na jediné číslo:
  - $LD_{50}$  (střední letální dávka) dávka, která zabije 50 % populace v testu
  - $LC_{50}$  (střední letální koncentrace) koncentrace, která zabije 50 % populace v testu
  - $ED_{50}$  (střední efektivní dávka) dávka, která vyvolá 50% účinek u pokusného modelu
  - $EC_{50}$  (střední efektivní koncentrace) koncentrace, která vyvolá 50% účinek u pokusného modelu

# Křivky dávka-odpověď

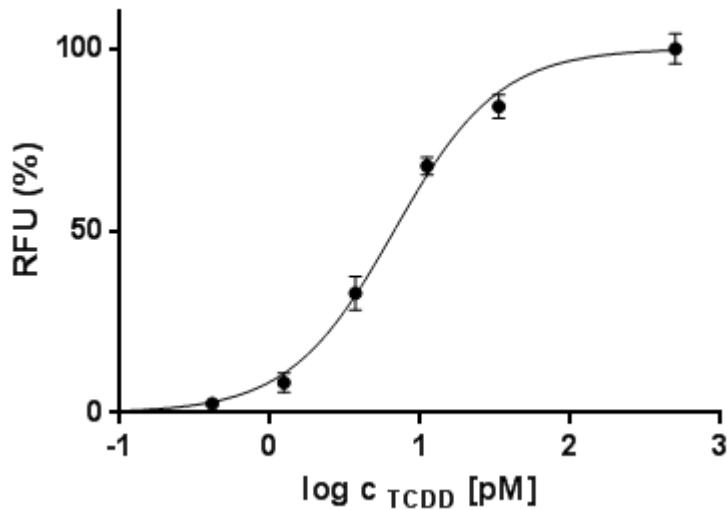




ideální křivka



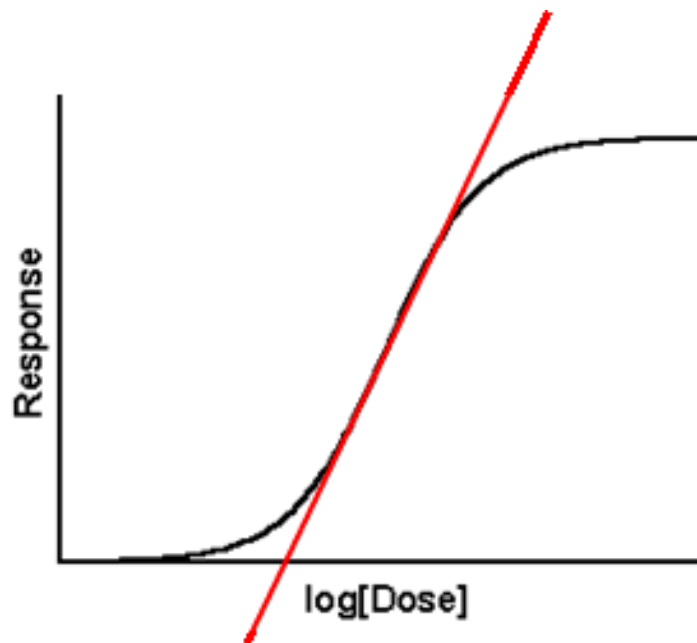
Skutečná data  
(normalizovaná odpověď)



Totéž po zlogaritmování  
koncentrace zkoumané látky

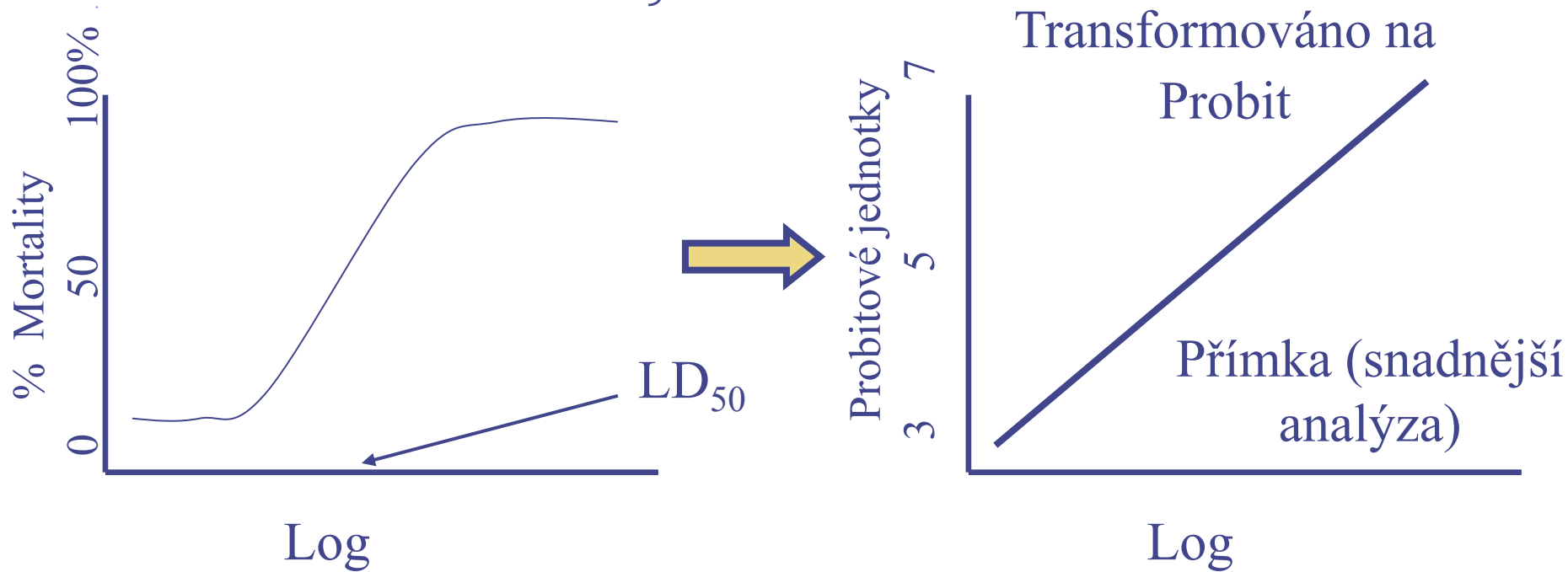
# 1. Způsob hodnocení -Lineární regrese

- Proložení exponenciálního modelu lineární částí křivky dávka-odpověď v excelu
- jednoduchý ale nepřesný
- Vhodný pro odhad  $EC_{50}$  u „hezkých“ křivek



## 2. Způsob hodnocení –probitová transformace

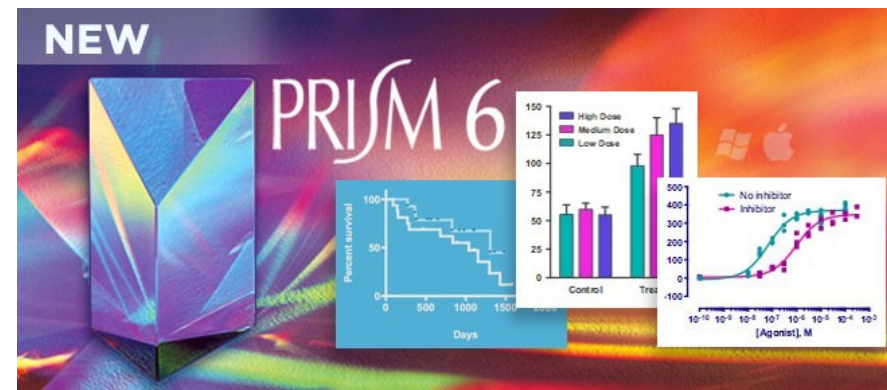
- Probitová transformace linearizuje křivku a umožňuje snazší odhad  $EC_{50}$
- jednoduchý ale ne vždy přesný – vychází z normálního rozložení citlivosti
- Vhodný pro odhad  $EC_{50}$  u „hezkých“ křivek





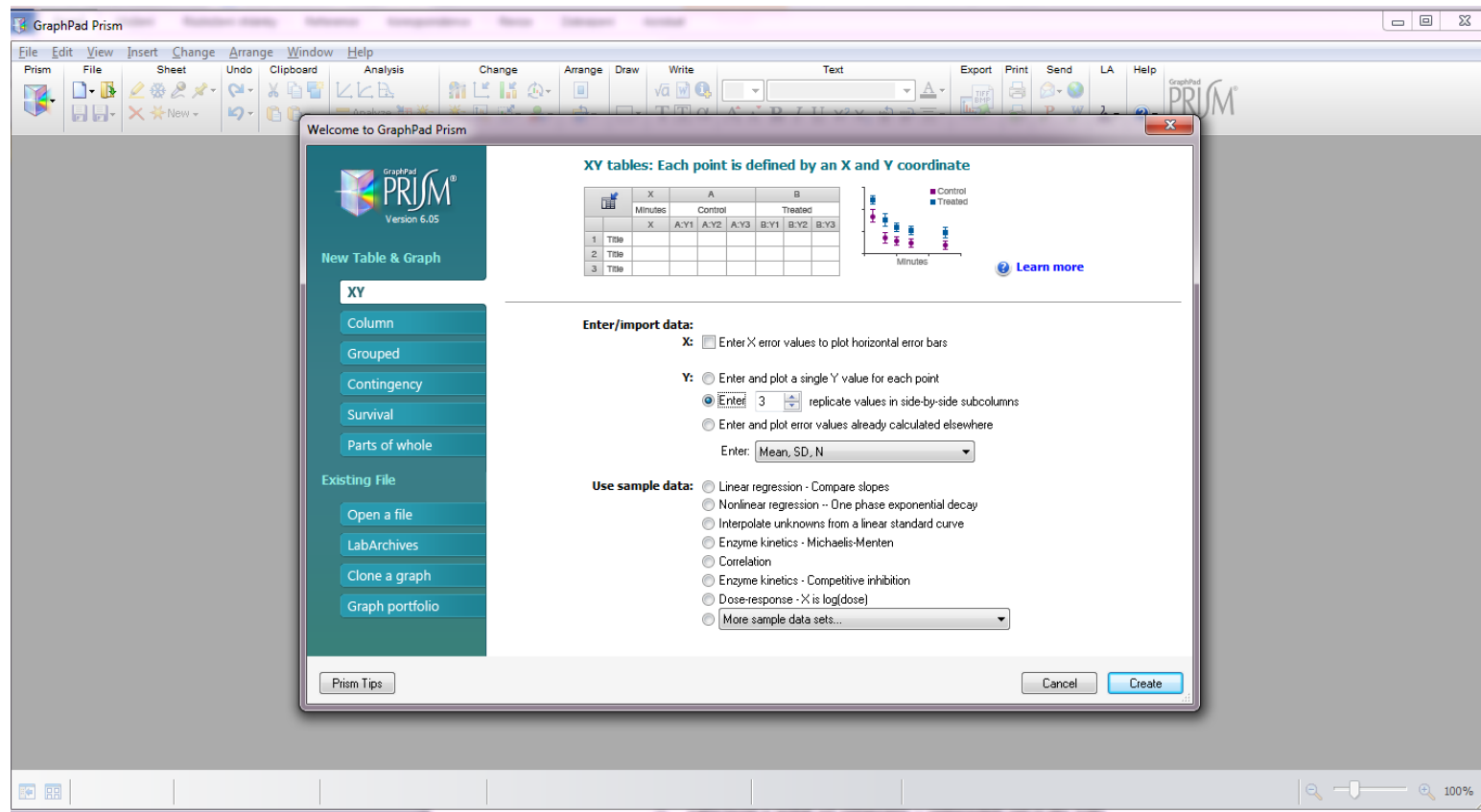
## 2. Způsob hodnocení – Nelineární regrese (logit)

- – zahrne celou křivku dávka-odpověď, pokryje i okrajové části, je zpravidla lepší/spolehlivější, hlavně pokud počítáme hodnoty blízko okrajových částí křivky ( $EC_{20}$ ,  $EC_{80}$  – pravděpodobnost větší odchylky od linearity)
- Důležité je, jak podrobně je proměřená křivka dávka-odpověď !
- více bodů – lepší regrese
- Je třeba specializovaný nástroj
- GraphPad Prism –
  - Dostupná 30 denní zkušební verze



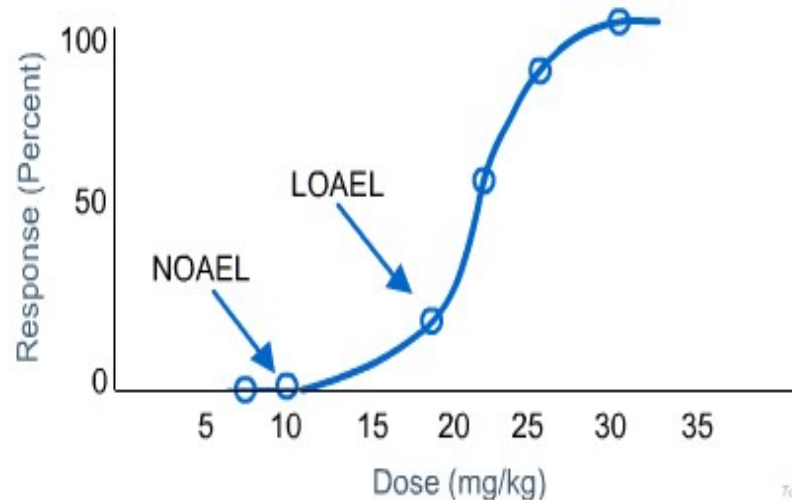
# GraphPad Prism –příklad postupu

- Create a new data file
- New Project File
- XY
- Y: Enter 3 replicate values ... (v případě triplikátů)
- Create



# No observed adverse effect level (NOAEL)

- Experimentálně získaná hodnota– nejvyšší dávka (koncentrace) bez pozorovaných škodlivých účinků (bez statistické významnosti)
- Lowest observed adverse effect level (LOAEL)
- Nejnižší zkoumaná dávka (koncentrace) vyvolávající škodlivé účinky (statisticky významně)



# No observed adverse effect level (NOAEL)

- Hodnocení např. pomocí GraphPad Prism (column analyses)
- Převedení dat o toxicitě do formy sloupců (ordinální data)
- Analýza pomocí one-way ANOVA
  - nutné prerekvizity dat:
    - - nezávislost měření (uvnitř skupin i mezi skupinami)
    - - normalita dat v každé skupině
    - - homogenita rozptylů uvnitř skupin (alespoň přibližná shoda rozptylů uvnitř skupin)
  - ANOVA informuje jen jestli je/není rozdíl mezi daty – neříká mezi kterými sloupci se rozdíl nachází
  - Pro porovnání sloupců je třeba použít post-hoc test např. Dunnettův test