

Sodobne statistične metode v medicini

1. vaja: Opisna statistika in univariatne metode za analizo podatkov

1. Pelosi in soavtorji (*Clinical Cancer Research*, 2007) so v članku *3q26 Amplification and Polysomy of Chromosome 3 in Squamous Cell Lesions of the Lung: A Fluorescence In situ Hybridization Study* določali klinične, demografske in patološke značilnosti pri bolnikih s ploščatoceličnim karcinomom (SCC, *squamous cell carcinoma*).

Pridobljeni rezultati o značilnostih bolnikov so podani v tabeli.

Legenda:

SCC: *squamous cell carcinoma*; PISCC: *parenchyma-infiltrating SCC*; EHSCC: *early hilar SCC*

Variable	All SCC (n = 138)	PISCC (n = 105)	EHSCC (n = 33)	P value (PISCC versus EHSCC)
Age (y)				
≤49	5 (3.6%)	4	1	
50-59	19 (13.8%)	13	6	
60-69	83 (60.1%)	66	17	
≥70	31 (22.5%)	22	9	0.89
Sex				
Male	135 (92.8%)	103	32	
Female	3 (2.2%)	2	1	0.56
Grading				
G ₁	4 (2.9%)	4	0	
G ₂	91 (65.9%)	66	25	
G ₃	43 (31.2%)	35	8	0.61
Tumor size (cm)				
<2	31 (22.5%)	11	20	
2-4	62 (44.9%)	49	13	
>4	45 (32.6%)	45	0	<0.001
pT				
1	83 (60.1%)	50	33	
2	55 (39.9%)	55	0	<0.001
Performance status				
Median (range)	90 (70-100)	90 (70-100)	90 (80-100)	0.095
Symptoms				
Absent	42 (30.4%)	37	5	
Local	59 (42.8%)	39	20	
Systemic	37 (26.8%)	29	8	0.037
Pack-year				
Median (range)	60 (0-203)	60 (0-203)	70 (15-232)	0.73
Vital status				
Alive	86 (62.3%)	60	26	
Dead	52 (37.7%)	45	7	0.038
Recurrences				
No	82 (59.4%)	57	25	
Yes	56 (40.6%)	48	8	0.041
Vascular invasion*				
No	100 (78.1%)	68	32	
Yes	28 (21.9%)	27	1	0.0013
Ki-67 index				
Median (range)	42% (8-77)	41% (13-75)	46.5% (8-77)	0.52

*Vascular invasion was assessed in 128 out of 138 tumors.

- (a) Na kratko opišite, kaj predstavljajo stolpci v tabeli.

Stolpec	Vsebina
Variable	
All SCC (n=138)	
PISCC (n=105)	
EHSCC (n=33)	
P value (PISCC versus EHSCC)	

- (b) Kako bi lahko izboljšali tabelo?

- Ali lahko primerjate neposredno številke 3. in 4. stolpca?
- Ali so imeli kakšno manjkajočo vrednost?

V metodah pišejo takole: *Qualitative data were presented as frequencies and/or percentages and compared using the Chi-squared, Fisher exact test, or Wilcoxon-Mann-Whitney test as appropriate.* (Podatki so predstavljeni kot frekvenca in/ali odstotki in primerjani s testi hi-kvadrat, Fisherjevim eksaktnim testom ali s testom (Wilcoxon-)Mann-Whitney).

- (c) Izpolnite tabelo

Spremenljivka	Vrsta spremenljivke	Statistični test	Sklep	Opombe
Age ^a				
Sex ^b				
Tumor size ^c				
Pack year				

^aKako so analizirali povezanost med starostjo in vrsto tumorja? Kaj so prednosti in kaj so pomankljivosti tega pristopa? Kaj nam pove vrednost P? Kaj je ničelna domneva?

^bNajdite napako v tabeli.

^cZakaj imamo eno samo vrednost P za spremenljivko *Tumor size* (velikost tumorja)? Kaj nam pove P vrednost? Kaj je ničelna domneva?

- (d) Kaj so lahko zaključili? Napišite stavek (ali dva), kjer vsebinsko povzamete rezultate.

- (e) Katero **mero središčnosti** in katero **mero razpršenosti** so uporabili za opis številskih spremenljivk?

- Zakaj mislite, da so se tako odločili?
- Prednost izbire:

- Pomankljivost izbire:
- Ali je izbira skladna s statističnim testom, ki so ga uporabili za primerjavo številskih spremenljivk?

(f) Oglejte si tudi tabelo 3 iz istega članka.

Variable	Category	No gain	Polysomy	P value*	Amplification	P value*
Tumor diameter	<2 cm	18	2	0.023	11	0.013
	2-4 cm	47	9		6	
	>4 cm	22	13		10	
Tumor stage	pT1	58	9	0.019	16	NS
	pT2	29	15		11	
Pack-year [†]	<15	3	2	NS	1	0.083
	15-60	28	10		11	
	>60	45	11		5	
p53 expression [‡]	neg	36	5	0.039	7	NS
	pos	35	17		14	
p21 labelling index [§]	<15%	43	7	0.029	10	NS
	15% or more	27	15		7	
Fascin expression [§]	<60%	11	0	0.109	1	NS
	60% or more	59	22		16	

Abbreviation: NS, not significant.
 *P value according χ^2 test.
[†]Pack-year data were known for 116 patients only.
[‡]p53 was assessed in 114/138 tumors; p53-negative tumors were up to 10% of immunoreactive cells, p53-positive tumors showed more than 10% of immunoreactive cells.
[§]Median value; p21 and fascin immunoreactivity were assessed in 109/138 tumors.

Ponovili bomo analizo za povezanost med velikostjo tumorja in vrsto amplifikacije.

(g) Poženite program SPSS (PASW) (z dvoklikom na ikono njegove bližnjice na namizju ali preko menija Start). Odprite datoteko **Vaja1Pelosi.sav** (postopek je **File** → **Open** → **Data...** ali s klikom na ustrezno ikono v opravljeni vrstici), kjer so podani podatki o velikosti tumorjev in o amplifikaciji 3q26.

(h) Kako so organizirani podatki? Kaj so vrstice, kaj so stolpci?

(i) Opisne statistike za spremenljivki lahko izračunate s tem postopkom (**Analyze** → **Descriptive Statistics** → **Frequencies**) in si jih lahko ogledate tudi grafično (postopek **Frequencies...**, gumba **Statistics...** in **Charts...**). Zapišite kontingenčno tabelo (lahko jo izračunate s postopkom: **Analyze** → **Descriptive Statistics** → **Crosstabs**)

(j) Kako bi lahko izboljšali tabelo? Pomagajte si s programom SPSS (**Charts** → **Cells**).

(k) Preverite s programom, ali sta velikost tumorja in vrsta amplifikacije povezani v populaciji. Uporabite postopek: (**Analyze** → **Descriptive Statistics** → **Crosstabs** → **Statistics**)

Izpolnite tabelo

Statistični test	
Ničelna domneva	
Statistični sklep	Zavrnamo ne zavrnamo H0
Vsebinski sklep	

Oglejte si še enkrat tabelo 3. v članku.

- Kaj pomeni *NS*?
- Ali ste izvedli isto analizo, kot so jo predstavili v članku?
- Na kaj se nanaša vsaka P vrednost?
- Razložite ničelno domnevo in podajte vsebinski sklep.
- Poskusite ponoviti analizo s članka s pomočjo SPSS (Namig: uporabite **Data** → **Select cases...**)

2. Danieli in soavtorji so v članku *Resting heart rate variability and heart rate recovery after submaximal exercise* primerjali športnike (ET: endurance-trained athletes) z osebami, ki se v zadnjih petih letih niso redno ukvarjali s športom (Controls).

V članku so podali naslednjo tabelo.

Basal characteristics of the group of endurance-trained athletes (ET) and the group of sedentary control subjects (Controls).

	ET (n=30)	Controls (n=30)	P value
Age (years)	50 (7)	52 (6)	0.38
Weight (kg)	70 (10)	83 (9)	<0.001
Height (cm)	175 (8)	175 (6)	??
HRrest (bpm)	63 (7)	79 (12)	??
SBP (mmHg)	120 (16)	132 (12)	0.007
DBP (mmHg)	80 (9)	90 (7)	< 0.001
VO2max (ml/kg/min)	52 (5)	33 (6)	<0.001

Legenda: Values are expressed as mean(SD). VO2max calculated maximal oxygen consumption, HRrest heart rate at rest, SBP systolic blood pressure, DBP diastolic blood pressure

- S katerim statističnim testom mislite, da so izračunali P vrednosti? Zakaj?
- Navedite ničelno domnevo, ki so jo testirali za telesno težo.
- Kaj so lahko vsebinsko zaključili?
- Oglejte si rezultate za višino in za HRrest (kjer vrednosti P niso podane). Kaj mislite, da so lahko zaključili za te spremenljivke?
- Kaj so lahko (vsebinsko) zaključili?
- Denimo, da bi raziskovalci nadaljevali raziskavo tako, da bi vse kontrole vključili v program redne vadbe in bi jih ponovno povabili na pregled po enem letu. S katero statistično metodo bi lahko preverili, ali se srčni utrip zniža z redno vadbo?

Statistični test
Ničelna domneva

- Tudi športnike ponovno povabijo na pregled po enem letu. S katero statistično metodo bi lahko preverili, ali je v teku leta prišlo do različnih sprememb pri kontrolah in pri športnikih?

Statistični test
Ničelna domneva

- V članku so podali še nekaj rezultatov.

Table 2 Exercise test responses and heart rate recovery in the group of endurance-trained athletes (ET) and in the group of sedentary control subjects (C).

	ET (n=30)	Controls (n=30)	P value	Adjusted P value
HRpeak (bpm)	150 (5)	148 (4)	0.089	0.95
HR30 (bpm)	119 (9)	127 (8)	<0.001	0.01
HRR30 (bpm)	31 (9)	21 (9)	<0.001	<0.001
%HRR30	20 (6)	14 (6)	<0.001	<0.001
HR1(bpm)	98 (10)	115 (9)	<0.001	<0.001
HRR1(bpm)	52 (11)	33 (9)	<0.001	<0.001
%HRR1	34 (7)	21 (6)	<0.001	<0.001
HR2 (bpm)	83 (10)	105 (9)	<0.001	<0.001
HRR2 (bpm)	66 (11)	43 (3)	<0.001	<0.001
%HRR2	44 (7)	29 (6)	<0.001	<0.001
SBPpeak (mmHg)	190 (27)	200 (30)	0.71	0.99
DBPpeak (mmHg)	85 (14)	90 (10)	0.035	0.13
Maximum power (W)	215 (50)	165 (50)	<0.001	<0.001
Duration of exercise (s)	740 (239)	587 (157)	<0.001	<0.001

Legenda: HRpeak Heart rate at exercise termination, HR30 heart rate at 30 s after cessation of exercise, HRR30 absolute heart rate decline 30 s after cessation of exercise, %HRR30 relative decline in heart rate 30 s after cessation of exercise, HR1 heart rate at 1st min after cessation of exercise, HRR1 absolute heart rate decline 1 min after cessation of exercise, %HRR1 relative decline in heart rate 1st min after cessation of exercise, HR2 heart rate at 2nd min after cessation of exercise, HRR2 absolute heart rate decline 2 min after cessation of exercise, %HRR2 relative decline in heart rate 2 min after cessation of exercise, SBPpeak systolic blood pressure at exercise termination, DBPpeak diastolic blood pressure at exercise termination, Maximum power maximum power reached during exercise

- V metodah pišejo: *The groups of control subjects and of athletes were compared using Students t test.*

To avoid false-positive results, the p values were adjusted using a multivariate permutation procedure. Zakaj so popravili analize za večkratno testiranje? Zakaj mislite, da so se bali, da bi se lahko pojavili lažno pozitivni rezultati? Kako se razlikujejo popravljene in nepopravljene vrednosti P?

1 Dodadne naloge za doma

1. Komentirajte slike. Kaj je dobro in kaj je slabo?

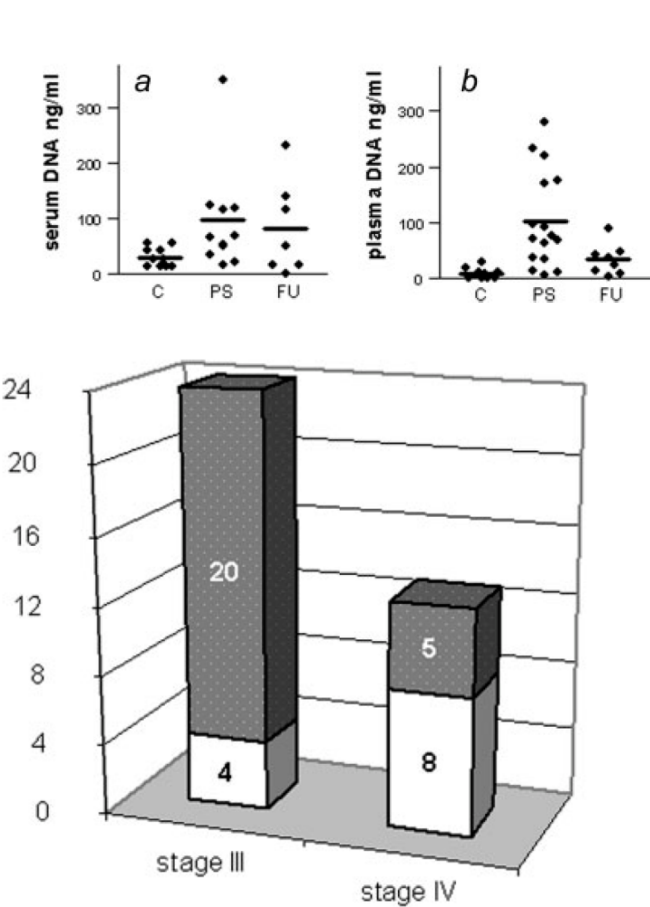
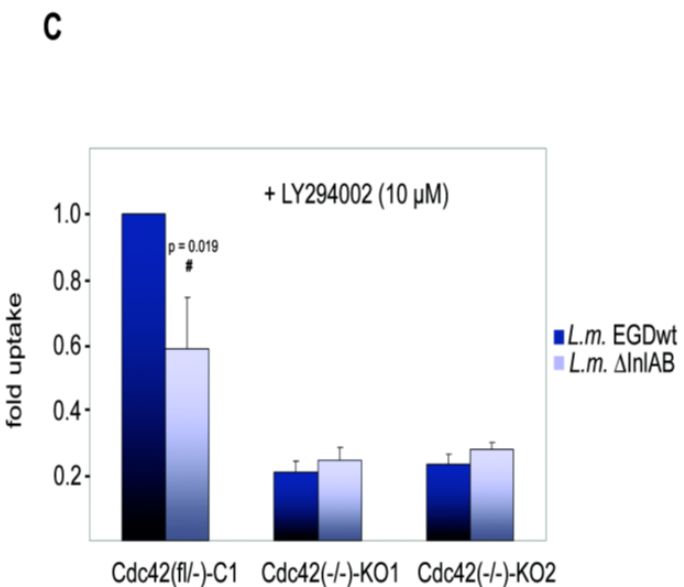


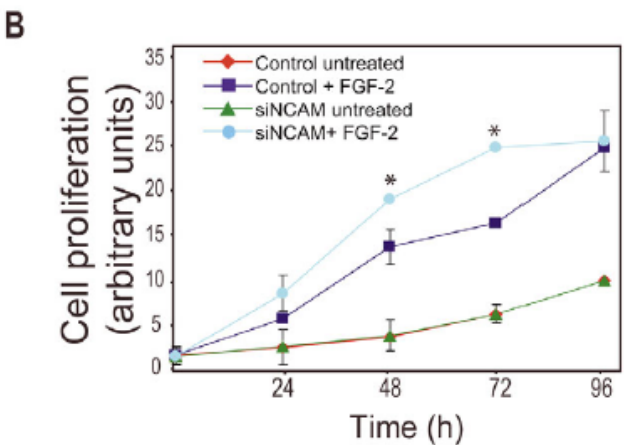
FIGURE 3 – BRAFV600E-mutation positive plasma DNA samples in stage III-IV melanoma patients. The numbers of samples analyzed for BRAFV600E mutation are indicated. Positives (□) and negative samples (■) are shown.

FIGURE 1 – Circulating DNA levels in sera (a) and plasma (b) of cutaneous melanoma stage III-IV patients. DNA from patients obtained presurgery (PS) and at follow-up (FU) and from healthy donors (C) are shown. Each dot represents the mean of values obtained for a single sample; horizontal bars represent mean values of samples group. For serum samples shown in (a), mean DNA values were 30.8, 97.3 and 81.7 ng/ml for controls, patients presurgery and patients at follow-up, respectively ($p < 0.05$ by unpaired t test comparing controls and patients). For plasma samples shown in (b), mean DNA values were 9.4, 103.8 and 33.7 ng/ml for controls, patients presurgery and patients at follow-up, respectively ($p < 0.005$ between controls and patients, and between the 2 patients' groups).



Data are means and standard errors of the means

Komentarji



became detectable also in control cells (not shown). (B) Cells transfected with either a control siRNA or with siNCAM1 were left untreated or were treated with FGF2 for the indicated time periods. Cell proliferation was assessed as described in the Materials and Methods. * $P < 0.005$, relative to untreated control cells.

2. Predpostavimo, da v populaciji nobena spremenljivka ni povezana z vrsto karcinoma (v prvi nalogi). Izvedli boste podobno raziskavo in ponovili analizo za vse spremenljivke navedene v tabeli. Kolikšna je verjetnost, da bi napačno zaključili, da je vrsta karcinoma povezana z vsaj eno spremenljivko?

Predpostavka je, da ničelne domneve: veljajo - ne veljajo?

Verjetnost, da bomo napačno sklepali, da je vrsta karcinoma povezana s starostjo:

Število statističnih testov:

Pravilno bomo sklepali, da nobena spremenljivka ni povezana z vrsto raka, ko:

Verjetnost, da bomo pravilno sklepali:

Verjetnost, da bomo napačno sklepali:

- Ali je verjetnost tovrstne napake odvisna od velikosti vašega vzorca? Ali bi jo lahko zmanjšali, če bi imeli večji vzorec?
- Osredotočite se na opisne spremenljivke, ki imajo dve možni vrednosti. Za katero spremenljivko imamo najmanjšo statistično moč (verjetnost, da bomo odkrili razliko med skupinama, takrat, ko obstaja)? Za katero pa največjo?
- Ali bi lahko povečali statistično moč, če bi imeli večji vzorec?

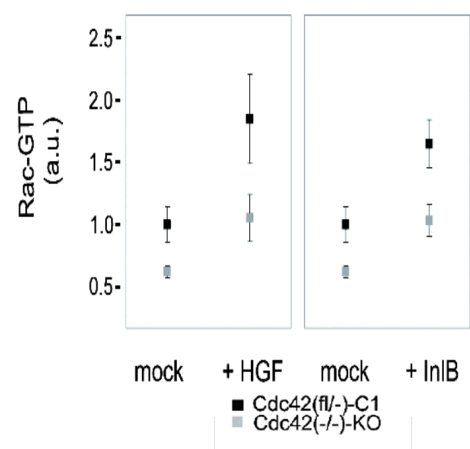
3. Bosse in soavtorji so v članku *Cdc42 and PI3K drive Rac-mediated actin polymerization downstream of c-Met in distinct and common pathways* (Mol. Cell. Biol., 2007) analizirali razlike med celicami z normalno izraženo CDC42 gena (CDC42(fl/-) C1) in tistimi, kjer je izraženo tega gena izbita (CDC42(-/-) KO - knock out). Merili so polimerizacijo (Rac-GTP) za CDC42(fl/-)-C1 in Cdc42 (-/-)-KO celic in primerjali povprečne vrednosti. Podatki so bili normalizirani glede na kontrolni poskus (*mock* je kontrolni poskus).

V metodah pišejo takole: *Clonal cell lines divided and subjected to different treatments were considered as paired data and thus analyzed using paired (one-sample) t-test, whereas datasets obtained from different clones or cell lines were compared using unpaired (two-sample) t-test.*

(a) Izpolnite tabelo

	unpaired (two-sample) t-test	paired (one-sample) t-test
Slovensko ime		
Kdaj ga uporabimo?		
Kaj je ničelna domneva?		
Kaj so predpostavke?		

Rezultati (ene izmed analiz) so v sliki.



Legenda: *Compromised Rac-GTP levels of knockout lines (grey) as compared to the parental control (black) both with and without HGF or InlB treatment.*
Data are means and standard errors of means.
Rac-GTP levels upon treatments with c-Met ligands (HGF or InlB) were confirmed to be higher in Cdc42 control cells (black) than in Cdc42-deficient cells (gray)
(one-sided two-sample t-test; $p=0.042$ and 0.0072 for HGF and InlB, respectively).

(b) Kaj nam povejo intervali na sliki? Namig: pišejo *Data are means and standard errors of means.*

(c) Kakšna slika bi bila primernejša?

(d) Izpolnite tabelo

	Poskus: +HGF	Poskus: +InlB
Približna razlika med povprečij		
Statistični test		
Ničelna domneva		
P vrednost		
Sklep		
Dvosmerni test: ničelna domneva		
Dvosmerni test: P vrednost		
Dvosmerni test: Sklep		