



**UNIVERZITET U BEOGRADU  
МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ**

**Dušica V. Gavrilović**

**Primena statistike u kliničkim istraživanjima  
sa osvrtom na korišćenje računarskih programa**

**- Master rad -**

**Mentor: prof. dr Vesna Jevremović**

**Beograd, 2013. godine**

## Zahvalnica

Ovaj rad bi bilo veoma teško napisati da nisam imala stručnu podršku, kvalitetne sugestije i reviziju, pomoć prijatelja, razumevanje kolega i beskrajnu podršku porodice. To su razlozi zbog kojih želim da se zahvalim:

- **Mom mentoru, prof. dr Vesni Jevremović** sa Matematičkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, koja je bila ne samo idejni tvorac ovog rada već i dugogodišnja podrška u njegovoj realizaciji. Njena neverovatna upornost, razne sugestije, neiscrpni optimizam, profesionalizam i razumevanje, predstavljali su moj stalni izvor snage na ovom master-putu.
- **Članu komisije, doc. dr Zorici Stanimirović** sa Matematičkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na izuzetnoj ekspeditivnosti, stručnoj recenziji, razumevanju, strpljenju i brojnim korisnim savetima.
- **Članu komisije, mr Marku Obradoviću** sa Matematičkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na stručnoj i prijateljskoj podršci kao i spremnosti na saradnju.
- **Dipl. mat. Radojki Pavlović**, šefu studentske službe Matematičkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na upornosti, snalažljivosti i kreativnosti u pronalaženju raznih ideja, predloga i rešenja na putu realizacije ovog master rada. Dugogodišnje prijateljstvo sa njom oduvek beskrajno cenim i oduvek mi mnogo znači.
- **Dipl. mat. Zorani Bizetić**, načelniku Data Centra Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, na upornosti, idejama, detaljnoj reviziji, korisnim sugestijama i svakoj podršci. Čak i kada je neverovatno ili dosadno ili pametno uporna, mnogo je i dugo volim – skoro ceo moj život.
- **Mast. biol. Jelici Novaković** na strpljenju, reviziji, bezbrojnim korekcijama i tehničkoj podršci svake vrste. Hvala na osmehu, budnom oku u sitne sate, izvrsnoj hrani koja me je vraćala u život, nes-kafi sa penom i transfuziji energije kada sam bila na rezervi. Hvala joj što je tu i što je moja.
- **Dipl. inž. gradđ. Dragana Gavriloviću**, mom suprugu Gaši, na pomoći, sugestijama, strpljenju, smehu, podršci. On je uvek bio, jeste i biće moj životni oslonac i inspiracija, moje vrelo smeha i šale, moj najbolji prijatelj, moja snaga i moje drugo ja. Hvala mu što postoji i što je baš – moj.
- **Dipl. mat. Milici Novaković**, profesoru matematike u šidskoj gimnaziji "Sava Šumanović", na stručnoj reviziji, strpljenju, beskrajnoj energiji i izdržljivosti. Njena jednostavnost, požrtvovanost, brižnost i toplina ali i dar za božanstvene kiflice i slatkiše, predstavljaju ono zbog čega se oseća srećno baš svako ko je poznaje. Hvala joj što je jednom davno postala moja.
- **Mojim sinovima Nikiti i Borisu Gavrilović** na upornom i dugotrajnom traženju grešaka u tekstu, na strpljenju i miru koji su imali dok sam pisala ovaj rad. Oni su moj život, sunce, srce i bogatstvo i taman kada pomislim da ih ne mogu voleti više, oni mi pruže novi razlog za još. Dragi dečaci, zahvaljujući vama, pojma "beskrajno" se neprestano uvećava i raste.
- **Ivi Kežić**, magistru biostatistike, na rečima i porukama punim podrške, energije i snage koje mi je slala iz daleka. Svojim ličnim primerom, bogatstvom i lepotom sopstvene duše, učinila je i mene jačom, boljom i kompletnejom. Hvala joj što je vrhunski biostatističar, što je humanista i borac, što postoji i što je moj najbolji ženski prijatelj koji me stalno menja i čini boljom.
- **Ireni Čosić, Dušku Stojanovskom i Dušanki Rapajić**, mojim kolegama iz Data Centra Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije koji su me u pisanju ovog rada podržavali osmehom, strpljenjem i razumevanjem, čak i kada je za sve to bilo prilično teško pronaći pristojan razlog.
- **I na kraju Milici Petrović – Seki**, mojoj mami, koja bi bila srećna i ponosna da je mogla da dočeka bar moje zvanje dipl. mat. Danas, uz ovu moju porodicu i ovo zvanje, znam da bi bila presrećna i preponosna. Ta moja tako malena a tako velika mama, imala je snage da svojom čistotom i ljubavlju izveze srećan početak jednog sićušnog ali časnog i srećnog mesta pod suncem - samo za mene. Večna joj slava i hvala za to, za ljubav i pažnju, za to što je bila baš - moja mama.

Zahvaljujući ovim dragim ljudima, njihovoj podršci, pažnji, ljubavi i strpljenju, jedna ideja i jedna želja sada su postali stvarnost. Hvala vam.

Dušica Gavrilović

## **Apstrakt**

### **BIOSTATISTIKA I KLINIČKA ISTRAŽIVANJA – ČESTE GREŠKE**

Od ciljeva istraživanja, obima uzorka i kvaliteta podataka zavisi izbor statističkih metoda i njihova primena, što se kroz rezultate direktno odražava na ukupan kvalitet istraživanja. Zbog grešaka u bilo kojoj od ovih faza, veliki broj radova nikada ne bude objavljen. Cilj ovoga rada je bio da se ukaže na neke od uobičajenih grešaka, da bi se one izbegle ili minimizirale.

Najčešće i najteže greške u kliničkim istraživanjima se prave u fazi njihovog planiranja (pogrešan dizajn studije; neprecizni/neadekvatni ciljevi; problem jedinke istraživanja; problem uzorka; problem predviđene statističke metodologije). U fazi prikupljanja podataka, najčešće greške su vezane za neprecizne merne skale, neusaglašenost jedinica mere i veliki broj nedostajućih podataka. Zbog neiskustva statističara, ali i zbog dostupnosti i jednostavnosti statističkih paketa koji daju slobodu nestatističarima za samostalnu statističku analizu bez dovoljnog predznanja, u fazi statističke obrade podataka najčešće greške nastaju usled pogrešnog izbora statističke metodologije, njenog nerazumevanja ili zbog neproveravanja ispunjenosti uslova za njenu primenu (mešanje zavisnih/nezavisnih podataka i/ili parametarskih/neparametarskih klasa testova). U fazi tumačenja rezultata statističke analize, greške nastaju najčešće usled nedovoljnog poznavanja statističke metodologije ili neadekvatne statističke analize (nehomogenost komparativnih grupa; pristrasnost; zbujući faktor; preterana stratifikacija i inflacija greške I vrste). Ovim nisu iscrpljene sve greške u kliničkim istraživanjima. Neke od njih nastaju usled nedovoljnog razumevanja suštine pojmove u statistici (p-value; 95% CI; Relative Ratio; ODDS Ratio; Hazard Ratio), dela njene metodologije (Survival analyses: DFI vs. DFS vs. TTP; censored data) ili karakteristika i ciljeva različitih tipova kliničkih studija (end-points-a).

Pored edukacije statističara za poslove biostatističara i popularizovanja uloge biostatističara u kliničkim istraživanjima počev od faze njegovog planiranja, treba podizati i nivo znanja, svesti i odgovornosti istraživača, a posebno nestatističara koji samostalno obavljaju statistički analizu. Ovakav stav predstavlja dobru osnovu za izbegavanje ili minimiziranje grešaka a samimi tim i podizanje ukupnog kvaliteta istraživanja.

---

Ključne reči: *statistika i medicinska istraživanja; česte greške u statističkoj analizi*

## **Abstract**

---

### **BIOSTATISTICS & CLINICAL RESEARCH - COMMON MISCONCEPTIONS**

---

The quality of scientific research largely depends on formulating feasible study objectives, sample size, quality of collected data and the choice of the analysis methods. Errors in any of those largely compromise the quality of the research in such a way that many of the scientific papers never get published. The objective of this paper is to highlight some of the most common errors and misconceptions so that they can be avoided or their impact can be minimized.

The most common mistakes in clinical research are made in the planning stage (unsuitable design, objectives of the research not carefully and clearly stated, research population choice, non-optimal sample size, non-adequate choice of statistical methods). During the data collection errors such as using measurement scales that are not precise enough, collecting data from various non-reliable sources and not preventing the loss of information which leads to missing data can have huge consequences on the quality of the research. Due to wide availability of user-friendly statistical software, non-statisticians, but also non-experienced statisticians often use non-suitable statistical methods to analyze the data. This usually arises from either non-understanding the statistical science behind the methods and using them without checking the conditions under which they can be used (confusing paired and non-paired data parametric and non parametric tests). Poor understanding of statistical methods along with neglecting important statistical aspects (homogeneity of treatment groups, different kind of biases, confounding factors, non-correcting for multiplicity testing) lead into erroneous interpretation of the researchy findings. These are not the only pitfalls into which reasearches can fall while performing the statistical analysis. Some of them can arise due to misunderstanding of basic staistical concepts such as p-value, 95%CI, risk ratio, odds ratio, hazard ratio, but also due to non-careful definitions of primary research variables (DFI, DFS, TTP etc.)

The importance of the role of a biostatistician in all the phases of clinical research, specially in the planning phase, must be clear to the research scientists. Research scientist should be aware of all the consequences if research is not carefully planned or executed in accordance with the statistical aspects of providing reliable results. Professional statisticians should be educated also in the field of biostatistics, while non-statisticians working on the statistical analysis need guidance from biostatisticians with knowledge or experience.

---

*Key words: statistics and medical research; common errors in statistical analysis*

## Sadržaj:

<b>1</b>	<b>UVOD .....</b>	1
1.1.	<b>Statistika i biomedicina .....</b>	2
1.2.	Zašto je biomedicinskoj struci potrebno znanje statistike? .....	2
1.3.	Šta profesionalci biomedicine treba da znaju o statistici? .....	3
1.4.	Zašto je biostatističarima potrebno znanje biomedicine? .....	5
1.5.	Šta biostatističari treba da znaju? .....	5
1.6.	Specifičnosti primene statistike u kliničkim istraživanjima .....	6
<b>2.</b>	<b>STATISTIKA I BIOMEDICINA: NEKI OSNOVNI POJMOVI .....</b>	7
2.1.	<b>Biomedicina: Istraživanja na ljudima .....</b>	7
2.1.1.	Karakteristike istraživanja .....	8
2.1.2.	Epidemiološke studije .....	9
2.1.3.	Eksperimentalna istraživanja. Klinički trajali .....	11
2.1.4.	Pilot studije. Meta analize .....	15
2.2.	<b>Neki statistički pomovi u biomedicini .....</b>	16
2.2.1.	Varijable i podaci u biomedicini .....	16
2.2.2.	Hipoteza, statistički koncept odlučivanja i p-vrednost u biomedicini .....	21
2.2.3.	Greške I/II vrste i snaga studije u biomedicini .....	23
2.2.4.	Interval poverenja u biomedicini .....	24
<b>3.</b>	<b>STATISTIKA U FAZI PLANIRANJA ISTRAŽIVANJA .....</b>	29
3.1.	<b>Ciljevi istraživanja. Izbor tipa istraživanja. Ciljna populacija. Uzorak .....</b>	30
3.1.1.	Formulisanje ciljevi istraživanja .....	30
3.1.2.	Izbor tipa istraživanja .....	32
3.1.3.	Izbor populacije. Entitet istraživanja .....	32
3.1.4.	Uzorak. Uzoračke grupe .....	33
3.2.	<b>Izbor varijabli za verifikaciju ciljeva .....</b>	36
3.2.1.	Primarna varijabla (varijable) .....	36
3.2.2.	Sekundarna varijabla (varijable) .....	38
3.2.3.	Ostale varijable .....	38
3.3.	<b>Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole .....</b>	39
3.3.1.	Kriterijumi za uključivanje subjekata u istraživanje .....	41
3.3.2.	Tehnike za izbor uzorka: uzorkovanje .....	42
3.3.3.	Obim uzorka .....	44
3.3.4.	Maskiranje i randomizacija .....	53
3.3.5.	Planiranje statističke analize .....	57
<b>4.</b>	<b>STATISTIKA U FAZI REALIZACIJE ISTRAŽIVANJA .....</b>	59
4.1.	<b>Prikupljanje i čuvanje podataka. Elektronske baze podataka .....</b>	59
4.2.	<b>Priprema podataka za statističku analizu .....</b>	61
<b>5.</b>	<b>STATISTIKA U FAZI ANALIZE PODATAKA .....</b>	64
5.1.	<b>Deskriptivna statistika .....</b>	65
5.2.	<b>Statistička analiza podataka .....</b>	68
5.2.1.	Izbor statističkog testa .....	68
5.2.2.	Veze između varijabli .....	73

<b>6.</b>	<b>STATISTIKA U FAZI PRIKAZA REZULTATA</b>	76
6.1.	Numerički opis i grafički prikaz podataka	76
6.1.1.	Kvalitativne (kategorne) varijable	76
6.1.2.	Kvantitativne (numeričke) varijable	79
6.1.3.	Prikaz dve varijable	80
<b>7.</b>	<b>NEKI PROBLEMI I GREŠKE U KLINIČKIM ISTRAŽIVANJIMA</b>	82
7.1.	Greške u tumačenju p-vrednosti	82
7.2.	Problem nedostajućih podataka	83
7.3.	Pogrešan zaključak I	84
7.4.	Greške u elektronskom zapisu uzoračkih podataka	84
7.5.	Problem višestrukih testiranja - inflacija greške I vrste	85
7.6.	Posledica nepreciznosti - nepouzdani uzorački podaci	89
7.7.	Pogrešna tumačenja korelacije	90
7.8.	Pogrešan izbor tipa istraživanja	91
7.9.	Posledica nepreciznosti - pogrešni uzorački podaci	92
7.10.	Pogrešan izbor primarne varijable	93
7.11.	Regresija – problem ekstrapolacije	94
7.12.	Pogrešan zaključak II	95
7.13.	Problem ekstremnih vrednosti	96
7.14.	Pogrešan zaključak III	96
<b>8.</b>	<b>RAČUNARSKI PROGRAMI ZA STATISTIČKU ANALIZU</b>	97
<b>9.</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	99
<b>10.</b>	<b>LITERATURA</b>	100
<b>11.</b>	<b>PRILOG</b>	102

## 1. UVOD

U današnjem društvu, u cilju otkrivanja zakonitosti pojava, procesa i saznavanja istine, sprovode se brojna naučna i društvena istraživanja. Takav istraživački proces podrazumeva da se od mnoštva podataka izaberu oni koji će za problem istraživanja biti posebno pogodni, korisni i na osnovu kojih će se zatim izvesti određeni zaključci koji će pružiti nova saznanja o posmatranom problemu. U takvom procesu statistika pruža nezaobilaznu pomoć. Upravo zato je poslednjih decenija statistika sve prisutnija u mnogim oblastima - ekonomiji, sociologiji, psihologiji, biologiji, medicini, trgovini (procena tržišta), genetici, čak i građevini (procena rizika). U nekim oblastima, ona se tako intenzivno koristi da je specijalizovana čak i terminologija: aktuarialstvo (eng. *Actuarial science*), biostatistika (eng. *Biostatistics*), poslovna statistika (eng. *Business statistics*), ekonometrija (eng. *Econometrics*), energetska statistika (eng. *Energy statistics*), epidemiologija (eng. *Epidemiology*) itd.

Termin *Biostatistika* se koristi za statistiku primenjenu u oblasti biomedicine (medicina, stomatologija, biologija i druge bio-nauke). Moglo bi se najopštije reći da je biostatistika nauka o primeni statističkog rasuđivanja i modeliranja u rešavanju problema iz širokog spektra tema biološke, medicinske i njima sličnih nauka. Shodno tome, biostatistika obuhvata sve faze istraživačkog projekta: njegovo planiranje, realizaciju, analizu podataka i interpretaciju rezultata. I ne samo to. Biostatističari takođe učestvuju u metodološkim i ili kolaborativnim istraživanjima, konsultacijama, edukaciji iz oblasti statistike te tako pružaju svoj doprinos kako statističkoj metodologiji, ekspertizi u planiranju i sprovođenju studije tako i obezbeđivanju konzistentnosti istraživanja sa dobrom statističkom praksom. Dalje, brojna metodološka istraživanja, koja pored razvoja statističke metodologije obuhvataju i razvoj novih pristupa biološkim i kliničkim pojavama, pomažu u unapređivanju postojećih znanja kako teorijske i primenjene biostatistike tako i metodologije naučnoistraživačkog rada u oblasti biomedicine.

Zbog svega navedenog, jasno je da biostatistika ima ključnu i centralnu ulogu u multidisciplinarnim osnovnim, kliničkim i drugim istraživanjima u oblasti biomedicine.

Sa druge strane, takvo i toliko prisustvo i značaj statistike u biomedicini već dugi niz godina izaziva zabrinutost obe struke - i statističara i *biomedicinara*<sup>1</sup>.

Statističari obično izražavaju zabrinutost zbog sporog ili nepravilnog prihvatanja statističkih ideja od strane biomedicinskih stručnjaka kao i česte zloupotrebe statističkih metoda ili rezultata. A stručnjaci iz oblasti biomedicine su zabrinuti zbog konstantnog povećanja pritiska ka upotrebi statističkih tehnika koje veoma retko u potpunosti razumeju.

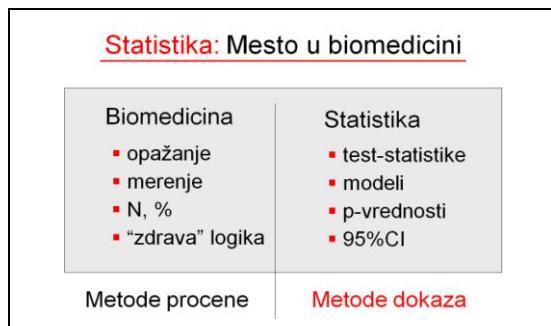
Većina statističara tokom školovanja uglavnom stiče teorijsko znanje iz oblasti matematike, verovatnoće, statistike te oni obično nemaju previše iskustva u praktičnoj primeni statistike niti znanja o specifičnostima biomedicine i njenih problema. Sa druge strane, zbog nezaobilazne uloge statistike u biomedicini, stručnjake iz oblasti biomedicine tokom školovanja uglavnom obučavaju za samostalnu primenu statističkih metoda, a to je ne samo čest izvor grešaka u istraživanjima već i razlog prepoznavanja mesto statistike jedino u fazi obrade prikupljenih podataka.

Razumevanjem ovih činjenica, može se zaključiti da postoje i potrebe i načini da se postojeće stanje poboljša - saradnjom i zajedničkim naporima i statističara i stručnjaka iz oblasti biomedicine.

<sup>1</sup> Pod terminom *biomedicinari* se misli na brojne stručnjake biomedicinske oblasti kao što su lekari (hirurzi, patolozi, imunolozi, pedijatri, internisti, onkolozi, kardiolozi itd.), biolozi (genetičari, molekularni biolozi itd.), stomatolozi, farmakolozi, farmaceuti i drugi

## 1.1. Statistika i biomedicina

Biomedicinske nauke i statistika se značajno razlikuju po problematici, naučnim ciljevima, interesnim sferama, metodologiji, terminologiji. S toga se s pravom može postaviti pitanje kako je statistika uopšte našla primenu u biomedicini i kako su toliko različite nauke našle bilo šta zajedničko?



U biomedicini (Slika 1.) pojave od značaja se procenjuju na osnovu iskustva, opažanjem, merenjem, prebrojavanjem, procentima, logičkim zaključivanjem. Međutim, sve navedene metode su neformalne u naučnom smislu - one su sigurno dobre za slobodnu procenu neke pojave ali ne i za naučni dokaz njenog postojanja.

Slika 1. Statistika i biomedicina

Statistika, kao nauka koja proučava procese zaključivanja kako teorijski tako i empirijski (kroz planiranje i analizu podataka eksperimenata, opservaciju, anketa), raspolaže statističkim testovima, matematičkim modelima, verovatnoćama, intervalima poverenja i drugim tehnikama koje su naučne, formalne metode pomoću kojih se donosi odluka u vezi postavljene naučne prepostavke (tzv. hipoteze) ali i opravdava izbor takve odluke.

Upravo u toj formalnoj metodologiji leži snaga statistike kao i razlog njene zastupljenosti u svim naučnim istraživanjima baziranim na eksperimentima, opservacijama, anketama.

Kao što je već rečeno, u svakodnevnoj upotrebi se često susreće termin *biostatistika* - primenjena statistika u oblasti biomedicine – u kojoj se, za potrebe planiranja biomedicinskih istraživanja kao i analize njihovih rezultata, razvijaju i primenjuju kako standardne tako i posebno pogodne statističke metode.

## 1.2. Zašto je biomedicinskoj struci potrebno znanje statistike?

Većina lekara i drugih stručnjaka iz oblasti biomedicine, čak i ako se ne bave eksplisitno naučnoistraživačkim radom, upućena je na praćenje, tumačenje i upotrebu dostignuća najnovijih istraživanja iz oblasti kojom se bave. Takve informacije su obično sadržane u radovima objavljenim u raznim stručnim časopisima i obiluju rezultatima statističkih analiza čija validnost zavisi od korektnosti postavke (tj. dizajna) istraživanja, ali i mnogih drugih faktora koji se odnose na fazu realizacije istraživanja, fazu statističke analize ili tumačenja rezultata.

Razna stručna literatura i uputstva za lekare sve više sadrže brojne statističke termine ili rezultate. Čak i dijagnostički testovi namenjeni rutinskoj upotrebi, često su kvalitativno opisani korišćenjem statističke terminologije<sup>2</sup>.

Ovako široko rasprostranjena upotreba statističkih termina, rezultata ili tehnika u medicini, uslovjava da nijedan biomedicinski profesionalac nije u stanju da prati, tumači ili koristi rezultate najnovijih istraživanja i druge stručne literature, bez makar minimalnog znanja osnova statistike.

Sa druge strane, lišeni osnovnih znanja statistike, lekari i drugi biomedicinski profesionalci bili bi osuđeni na bezrezervno prihvatanje rezultata prikazanih u sažecima i radovima kao i integrisanje takvih rezultata u svakodnevnu kliničku praksu, pa čak i u situacijama kada bi takvi rezultati bili

<sup>2</sup> Napr. koeficijent varijacije snimka iznosi ±5% u odnosu na referentni opseg koji se dobija kao prilog uređaju.

zasnovani na nepouzdanim, neubedljivim ili čak pogrešnim zaključcima ili dokazima. A to bi neminovno rezultiralo opadanjem kvaliteta lečenja i njegovom neetičnošću.

Pored toga, često se dešava da lekari učestvuju u određenom naučnom istraživanju, bilo u cilju povećanja ukupnog medicinskog znanja (što se smatra jednom od dužnosti medicinske struke) ili zbog akademskog ili naučnog napredovanja u struci. Upravo zbog toga se stručnjaci iz svih oblasti biomedicine na poslediplomskim studijama (specijalističke, master, doktorske) podstiču na samostalan naučnoistraživački rad, što obično podrazumeva kritičko pretraživanje relevantne literature, samostalno planiranje istraživanja, realizaciju ali i samostalno snalaženje sa raznim formama statističke analize. Žurba, neiskustvo i često nedovoljno i/ili neadekvatno znanje, nažalost učestalo rezultiraju velikim brojem grešaka i propusta u istraživanju, počev od faze njegovog planiranja, preko realizacije, analize, prikaza pa sve do zaključaka. Takve greške opravdano onemogućavaju publikovanje dobijenih rezultata što dodatno predstavlja loš podsticaj biomedicinarima da nastave putem naučnoistraživačkog rada.

Zbog toga je jasno da lekari i drugi profesionalci biomedicinske struke u nekom period svog profesionalnog života moraju da usvoje bar neke osnove statistike. Ako za neke studente to znači samo dobijanje prelazne ocene na ispitu, za lekare to predstavlja premisu i nužnost za razumevanje najnovijih dostignuća u struci i njihovu uspešnu integraciju u svakodnevni proces lečenja.

### 1.3. Šta profesionalci biomedicine treba da znaju o statistici?

Ne postoji definisan minimum znanja iz statistike koje lekari i drugi profesionalci biomedicinske struke treba da poseduju. Često se takvi istraživači informišu i nauče bar one statističke tehnike koje se koriste u objavljenim radovima iz oblasti kojom se bave. Za takve osobe opravdano se može očekivati da će biti u stanju da se uspešno nose sa većinom stručne literature kao i većinom sopstvenih statističkih problema.

Međutim, statistički sadržaji objavljenih radova se koncentrišu gotovo isključivo na korišćene statističke metode, bez razmatranja boljih, moćnijih, efikasnijih ili pouzdanih statističkih tehnika koje bi takođe bile primenljive u izloženoj problematiki.

Sa druge strane, statistički sadržaji objavljenih radova jesu od značaja jer ukazuju i na najčešće upotrebljivane statističke metode [5]: obično jednostavne metode deskriptivne statistike, t-test (u različitim formama), rezultati analiza tabela kontigencije (uglavnom Pirsonov  $\chi^2$ -test) i Pirsonov/Spirmanov koeficijent korelacije. Neparametarske metode su takođe često prisutne dok radovi iz oblasti hirurgije i onkologije obiluju rezultatima Analize preživljavanja (eng. *Survival Analysis*). Brojne druge metode, koriste se tek u malom broju radova.

Iz ovakvog pregleda, jasno je da sposobnost kritičke procene stručne literature zahteva razumevanje ne kratkog, već poduzeđeg spiska statističkih tehnika. Pri tome, pod razumevanjem se misli na uvažavanje i poštovanje principa i pretpostavki na kojima počiva ukupno istraživanje, što nužno ne podrazumeva i sposobnost da se slična analiza samostalno izvrši [5].

Kao što je pomenuto, biomedicinari pored stručne literature stiču neka znanja o statistici sve češće tokom regularnih nastavnih programa medicinske statistike, biostatistike i sl. koji se sprovode na osnovnim i poslediplomskim studijama.

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Na osnovu dostupnih informacija [5] u svetu postoje problemi vezani za:

- Stručnosti nastavnog kadra  
Veliki broj predavača za oblast biostatistike jeste nematematičke struke, tako da često ni oni sami ne razumeju suštinu koncepta statističkog zaključivanja, osnove teorije verovatnoće, matematičke termine i funkcije, statističke metode i uslove za njihovu primenu. Usled navedenih problema, nastava biostatistike obiluje pogrešnim objašnjenjima, postavkama i tumačenjima statističkih pojmovi, metoda i sl.
- Kvaliteta udžbenika, skripti, uputstava, tzv. vodiča (eng. *guidance*)  
Veliki broj knjiga, skripti i uputstava u kojima se objašnjavaju statistički pojmovi, metode, tehnike, obiluju nerazumevanjem, greškama ili čak obmanjujućim primerima.
- Dostupnost računarskih programa i informacija sa Interneta  
Brojni računarski programi namenjeni statističkoj obradi podataka koji su jednostavni čak i za laičku upotrebu ili testovi i literatura koji su dostupni putem Interneta (često netačni), dodatno stvaraju osećaj jednostavnosti statističke analize. To takođe predstavlja jedan od razloga njene masovne i često pogrešne upotrebe, uglavnom od strane nestatističara.

Zbog svega navedenog, nije iznenadujuće prisustvo velikog broja grešaka u izboru i primeni statističkih metoda kao i interpretaciji njenih rezultata.

Međutim, raspon grešaka se ne završava na statističkoj metodologiji već zadire i daleko dublje – u nedostatke same postavke istraživanja (neadekvatni ciljevi, tipovi istraživanja, varijable za verifikaciju ciljeva; mali obim uzorka itd.) što dalje rezultira greškama u prezentaciji, interpretaciji, zaključcima.

Otuda je za biomedicinske istraživače, pored metoda statističke analize, od suštinskog značaja i razumevanje nekih principa dizajna istraživanja. Naime, pored poznavanja i razumevanja metoda koje su korišćene za analizu podataka kliničkog istraživanja, čitalac stručne literature treba da pravilno proceni i kvalitet tog istraživanja u smislu njegove validnosti<sup>3</sup>.

Od svih tipova biomedicinskih istraživanja, klinička istraživanja su najkompleksnija te poseduju važne aspekte dizajna, sa posebnim akcentom na izbor uzoračkih grupa. Slično je sa istraživanjima koja služe za procenu dijagnostičkih testova.

Sve ovo ukazuje da je od prevashodnog značaja usvajanje opšteg koncepta statističkog zaključivanja koji se, pored specifične statističke metodologije, sve više uspešno implementira u proces dizajniranja istraživanja u biomedicini kroz postavku osnovnih hipoteza, izbor uzorka, izbor metoda analize po principu moći itd.

Opšti koncept statističkog zaključivanja je neuporedivo važniji od spiska statističkih metoda, od kojih je većina lako dostupna iz udžbenika statistike ili većine statističkih računarskih programa. Uvažavanje naučnog metoda je najbolji pristup istraživanju u svakoj njegovoj fazi (planiranje, realizacija, analiza podataka, interpretacija rezultata).

---

<sup>3</sup> Korektnost dizajna; obima, strukture i uporedivosti ispitivanih grupa; dinamike merenja, praćenja i sl.

## 1.4. Zašto je biostatističarima potrebno znanje biomedicine?

Neosporno je da je statistika obogatila biomedicinu i oblast javnog zdravlja. O tome govori i Rik Viklin (eng. *Rick Wicklin*)<sup>4</sup>. Viklin [40] podseća da je u našem modernom društvu ponekad teško prisetiti se ogromnog napretka<sup>5</sup> u zdravstvu i medicini tokom 20. veka i ukazuje na brojna dostignuća<sup>6</sup> u oblasti javnog zdravlja tokom prošlog veka koja bi bila nemoguća bez statistike.

Primena statistike u biomedicini je omogućila sprovođenje brojnih istraživanja. Kako bi se na adekvatan način obezbedila kompleksna i korektna uloga statistike u biomedicini, neophodno je da biostatističari imaju dovoljno znanja o oblastima biomedicine u čijim istraživanjima učestvuju. Da bi se obezbedila dobra komunikacija statističara i biomedicinara, definisao dobar plan ukupnog istraživanja i obezbedili korektni i validni zaključci istraživanja, potrebno je da biostatističari dobro poznaju oblast biomedicine u kojoj se istraživanje sprovodi<sup>7</sup>.

## 1.5. Šta biostatističari treba da znaju?

Kako je biostatistika postala nova definisana grana nauke koja predstavlja spregu statistike, verovatnoće i informatike u cilju pružanja odgovora na razna pitanja biomedicine, to znači da biostatističari kao kolaborativni /ili metodološki istraživači moraju da poseduju:

- znanja tradicionalne teorije verovatnoće i statistike
- znanja specifične metodologije (epidemiologija, klinički trajali, analiza preživljavanja...)
- znanja nekih osnova biomedicine<sup>8</sup> i zakonskih regulativa<sup>9</sup> u zavisnosti od oblasti biomedicine u čijem istraživanju učestvuju.
- znanja iz oblasti informatike
- veštine u komunikaciji i rukovođenju

---

<sup>4</sup> Rick Wicklin – istraživač i stručnjak za računarsku statistiku (eng. *computational statistics*), statističku grafiku (eng. *statistical graphics*), statističke simulacije (eng. *statistical simulation*), moderne metode u statističkoj analizi podataka (eng. *modern methods in statistical data analysis*) softverske kompanije SAS

<sup>5</sup> Primena penicilina (otkriven 1928.); poznavanje faktora rizika srčanih i moždanih udara (identifikovani 1950.); rutinska vakcinacija (vakcine su nastale tokom druge polovine 20. veka u cilju sprečavanja bolesti od kojih je nekada stradalo na hiljade dece godišnje).

<sup>6</sup> Rutinska imunizacija dece; bezbednost upotrebe motornih vozila; pad smrtnosti od srčanih i moždanih udara; važnost zdrave ishrane; duvan kao opasnost po zdravlje; pad broja povreda na radu; kontrola zaraznih bolesti; zdravlje majke i bebe; planiranje porodice; fluorisanje vode za piće.

<sup>7</sup>Napr. u onkologiji to su vrste oboljenja i njihove specifičnosti, standardni tretmani lečenja i njihova zavisnost od pottipova oboljenja, biologija bolesti, uloga biomarkera, načini kliničke ili patohistološke procene odgovora tumora na terapiju i sl.

<sup>8</sup>Biologija, stomatologija, farmakologija, medicinske discipline poput pedijatrije, onkologije, neurologije, kardiologije ili sl.

<sup>9</sup>Helsinski deklaracija; Metodologija naučnoistraživačkog rada; Etika naučnoistraživačkog rada; Dobra naučna praksa (eng. *GSP - Good Scientific Practice*); Dobra klinička praksa (eng. *GCP – Good Clinical Practice*); Dobra laboratorijska praksa (eng. *GLP – Good Laboratory Practice*); razni međunarodni vodiči (eng. *The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use /ICH/ - ICH Guidelines: Clinical Safety E1 - E2F; Clinical Study Reports E3; Dose-Response Studies E4; Ethnic Factors E5; Good Clinical Practice E6; Clinical Trials E7-E11; Clinical Evaluation by Therapeutic Category E12; Clinical Evaluation E14; Pharmacogenomics E15 - E16; MedDRA Terminology M1; Electronic Standards M2; Nonclinical Safety Studies M3; Common Technical Document M4; Data Elements and Standards for Drug Dictionaries M5; Gene Therapy M6; Genotoxic Impurities M7; Electronic Common Technical Document /eCTD/ M8*) itd.

Potrebe za veštinom komunikacije i rukovođenja verovatno će biti još veće nego ranije, s obzirom na centralnu ulogu koju biostatistika i bioinformatika sada imaju u biomedicinskim istraživanjima.

Uz to, kako su problemi biomedicine veoma različiti, biostatistika se pored domena statistike, verovatnoće i informatike oslanja i na druge oblasti<sup>10</sup> koje joj obezbeđuju nove kvantitativne metode te će raspon znanja biostatističara nužno biti proširen.

## 1.6. Specifičnosti primene statistike u kliničkim istraživanjima

Statistika u biomedicini ima dvojaku ulogu - kolaborativnu i metodološku - što joj obezbeđuje ključno i centralno mesto u multidisciplinarnim osnovnim, kliničkim i drugim istraživanjima iz oblasti biomedicine.

Mesto, značaj i uloga statistike u kliničkim istraživanjima, kao najkompleksnijim tipom istraživanja i sa najstrožijom zakonskom regulativom jer se sprovode nad ljudima, odavno su prepoznati i usmereni su ka: optimizaciji dizajna kliničkog istraživanja; minimiziranju varijabiliteta i pristrasnosti; korektnoj analizi podataka, interpretaciji, zaključcima; maksimizaciji preciznosti i validnosti.

Kako je značaj dostignuća savremene biomedicine u oblasti javnog zdravlja ogroman, a dalji napredak nemoguć bez učešća statistike, upravo zato se u današnjem društvu sve više ulaže u kompleksnu edukaciju biostatističara.

Za početak, razumevanjem mesta i uloge statistike kao i važnosti valjane primene njene metodologije u kliničkim istraživanjima, pružaju se smernice za uspešan prolazak kroz različite faze kliničkog istraživanja kako biomedicinskim istraživačima tako i budućim biostatističarima.

Stoga, cilj ovog rada jeste da se ukaže na specifičnosti primene statistike u kliničkim istraživanjima i to pojašnjavanjem uloge i značaja statistike:

- u fazi planiranja i dizajna kliničkog istraživanja (najveći i najvažniji doprinos)
- u fazi realizacije kliničkog istraživanja (priključivanje podataka, elektronske baze i priprema podataka za statističku analizu)
- u fazi analize podataka kliničkog istraživanja (deskriptivna i inferencijalna statistika)
- kroz primere kliničkih istraživanja u cilju postizanja pravilnog pristupa statističkim metodama, tumačenju rezultata ali i detekciji drugih propusta u istraživanju
- kroz osrvt na statističke računarske programe

Da bi se na pravi način razumela primena statistike u kliničkim istraživanjima, u ovom radu su korišćeni stvarni ili hipotetički primeri ili greške iz prakse, uz zaštitu privatnosti i/ili poverljivosti podataka i učesnika u kliničkim istraživanjima.

Poglavlja u ovom radu (osim poglavlja 2. *Statistika i biomedicina: neki osnovni pojmovi* i poglavlja 7. *Neki problemi i greške u kliničkim istraživanjima*) organizovana su tako da prate hronologiju i prirodan tok faza kliničkih istraživanja.

---

<sup>10</sup>Operaciona istraživanja; ekonometrija; epidemiologija; genetika i populaciona genetika; ekologija; kompjuterska biologija, itd.

## 2. STATISTIKA I BIOMEDICINA: NEKI OSNOVNI POJMOVI

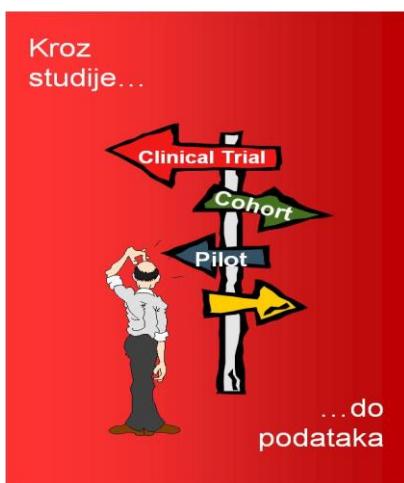
Veliki broj rezultata istraživanja nikada nije publikovan usled nekorektnog dizajna istraživanja, grešaka u statističkoj analizi, prikazu podataka, nekorektnih zaključaka i sl. Većina ovakvih grešaka počiva na nepotpunom ili nedovoljnem poznavanju prirode biomedicinskih problema ili uloge i mesta statistike u istraživanju.

Statističari često imaju problem sa razumevanjem specifične terminologije biomedicine, nepreciznim objašnjenjima ili nejasnim zahtevima. Ali i stručnjacima biomedicine često predstavlja problem da pravilno usvoje pojам variable, obeležja ili funkcije raspodele, koncept statističkog testiranja i odlučivanja, stvarno značenje p-vrednosti, 95% intervala poverenja i sl. Usled toga je saradnja statističara i stručnjaka biomedicine često opterećena uzajamnim nerazumevanjem.

U želji da se poboljša komunikacija i saradnja statističara i stručnjaka biomedicine, u ovom poglavlju su ne samo izloženi neki važni pojmovi iz oblasti biomedicine, već i dati primjeri kako da se važni statistički pojmovi na intuitivnom nivou objasne nematematičarima.

### 2.1. Biomedicina: Istraživanja na ljudima

Iako u biomedicini postoje različiti tipovi istraživanja, statistika daje svoj univerzalni doprinos boljem kvalitetu svakog od njih. Opšti koncept statističkog zaključivanja je isti i primenljiv u svakoj od takvih studija, ali su praktična rešenja, proistekla iz istog koncepta, veoma različita i specifična, prilagođena zahtevima određenog tipa istraživanja. Da bi se na pravi način razumela uloga statistike u njima kao i prirodnost i nužnost nekih pristupa ili rešenja, treba dobro znati i sličnosti i razlike bar nekih češćih tipova istraživanja koja se danas sprovode u oblasti biomedicine.



Slika 2. Vrste istraživanja

U metodologiji naučnoistraživačkog rada postoje mnogobrojne vrste istraživanja u biomedicini [18] (Slika 2.):

**Prema svrsi:**

- bazična istraživanja (povećanje znanja)
- primenjena istraživanja (praktična primena)

**Prema akciji:**

- opservaciona (neintervencijska)
- eksperimentalna (intervencijska)

**Prema subjektima:**

- in vitro (kulture, ćelije)
- in vivo (modeli nad životinjama)
- klinička istraživanja

U fokusu ovog rada jeste primena statistike u istraživanjima na ljudskim subjektima tj. kliničkim istraživanjima. Ova istraživanja imaju najstrožije zahteve i zakonsku regulativu.

*Deklaracija iz Helsinkija, koja se odnosi na preporuke kojima se rukovode lekari prilikom sprovodjenja biomedicinskih istraživanja na ljudima, prihvaćena je kao osnova za etičnost kliničkih ispitivanja. Ona se mora dobro poznavati i u potpunosti poštovati od strane svih učesnika. Na samom početku teksta Helsinške deklaracije jasno je ukazano da dužnost lekara nije samo da leči bolesne ljude, već da svoje znanje stalno unapređuje: "Poziv je lekara da čuva zdravlje ljudi. Njegovo ili njeno znanje i savest posvećeni su ispunjenju ovog zadatka... Medicinski progres zasnovan je na istraživanju koje se, nakon svega, jednim delom mora oslanjati na ispitivanju na ljudima". [...]*

*Svako kliničko ispitivanje mora biti u skladu sa: 1. Zakonskim propisima koji regulišu oblast kliničkih ispitivanja, 2. Standardima Dobre Kliničke Prakse za ispitivanje medicinskih proizvoda na ljudima i 3. Etičkim principima sadržanim u Helsinškoj deklaraciji [21; str. 34]*

Svi istraživači-učesnici u kliničkom ispitivanju, pored ekspertskega znanja iz struke, moraju poznavati zakonsku regulativu<sup>11</sup> kao i osobnosti oblasti biomedicine<sup>12</sup> u kojoj se istraživanje sprovodi.

### 2.1.1. Karakteristike istraživanja

Sva istraživanja u biomedicini, pa i ona na ljudima, mogu biti:

- **opservaciona ili eksperimentalna**

- opservacione studije (eng. *Observational study*) su istraživanja u kojima se prikupljanje informacija vrši opservacijom, pri čemu istraživač ni na koji način ne utiče na prirodan tok događaja
- eksperimentalne studije (eng. *Experimental study*) su istraživanja u kojima istraživač planski utiče na tok događaja studije i ispituje efekte tog uticaja.

- **prospektivna ili retrospektivna**

Između prospektivnih i retrospektivnih studija postoji jasna hronološka razlika:

- u *prospektivnim studijama* prikupljaju se podaci o događajima koji se dešavaju nakon početka studije
- u *retrospektivnim studijama* prikupljaju se podaci o dogadjajima koji su se desili pre početka studije

- **longitudinalana istraživanja ili studije preseka**

- u *longitudinalnim studijama* (eng. *Longitudinal study*) se ispituju promene/efekti tako što se podaci prikupljaju više puta u različitim vremenskim intervalima
- u *studijama preseka* (eng. *Cross-sectional study*) se prikupljanje podatka vrši samo jednom u toku studije.

### Tipovi istraživanja: kombinacije



Slika 3. Klinička istraživanja

Različiti tipovi istraživanja nastaju kombinovanjem navedenih karakteristika studija (Slika 3.; [15,16]), ali ne pukim izborom. Tako su:

- eksperimentalne studije uvek prospektivne i longitudinalne
- opservacione studije mogu biti i prospektivne i retrospektivne, sa ili bez svojstva longitudinalnosti.

<sup>11</sup> Helsinška deklaracija; Metodologija naučnoistraživačkog rada; Etika naučnoistraživačkog rada; Dobra naučna praksa (eng. *GSP - Good Scientific Practice*); Dobra klinička praksa (eng. *GCP – Good Clinical Practice*); Dobra laboratorijska praksa (eng. *GLP – Good Laboratory Practice*); razni međunarodni vodiči (eng. *The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use /ICH/ - ICH Guidelines: Clinical Safety E1 - E2F; Clinical Study Reports E3; Dose-Response Studies E4; Ethnic Factors E5; Good Clinical Practice E6; Clinical Trials E7-E11; Clinical Evaluation by Therapeutic Category E12; Clinical Evaluation E14; Pharmacogenomics E15 - E16; MedDRA Terminology M1; Electronic Standards M2; Nonclinical Safety Studies M3; Common Technical Document M4; Data Elements and Standards for Drug Dictionaries M5; Gene Therapy M6; Genotoxic Impurities M7; Electronic Common Technical Document /eCTD/ M8*) itd.

<sup>12</sup> Biologija; stomatologija, farmakologija; medicinske discipline poput pedijatrije, onkologije, kardiologije i sl.

(napr. *Eksperimentalna grupa* u eksperimentalnim istraživanjima; grupa *Slučajeva* u studijama parova; *Kohorta* u kohortnim istraživanjima i sl.).

U većini kliničkih istraživanja, ovoj grupi subjekata je obično suprotstavljena **kontrolna grupa** koju čine subjekti koji nemaju svojstvo od značaja za ispitivanje.

**Subjekti obe ispitivane grupe treba da budu što sličnijih osnovnih tzv. inicijalnih<sup>13</sup> osobina** kako bi se obezbedila verodostojnost rezultata dobijenih poređenjem podataka, informacija, merenja od značaja o subjektima tih grupa.

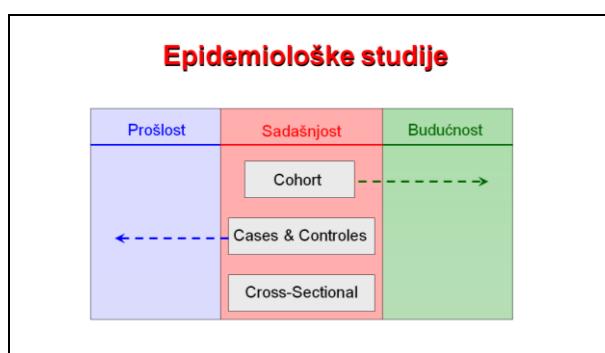
U eksperimentalnim istraživanjima, kontrolna grupa je esencijalna za validnost uzročno-posledične veze koja se ispituje i zato je treba pažljivo izabrati. Njena uloga u opservacionim istraživanjima je slična, ali su njen izbor, struktura i brojnost veoma specifični.

### 2.1.2. Epidemiološke studije

**Epidemiološke<sup>14</sup> studije** su većinom opservacione studije na ljudima kojima se ispituju veze između faktora i ishoda (stanja) od interesa (napr. povezanost pušenja i infarkta miokarda, anemije i prevremenog porođaja kod trudnica). Generalno, epidemiološke studije mogu biti:

- **deskriptivne:** Prikaz slučaja (eng. *Case report*), Serija slučajeva (eng. *Case series*); Deskriptivne studije bazirane na stopama (eng. *Descriptive study based on rates*)
- **analitičke:** Studije preseka (eng. *Cross-sectional study*), Studije parova (slučaj-kontrola; eng. *Case-control study*), Kohortne (eng. *Cohort study*), Ekološke (eng. *Ecological study*), hibridnog dizajna
- **intervencijske:** preventivne studije koje se sprovode radi procene da li proizvod, supstanca ili procedura smanjuje rizik od razvijanja određene bolesti među pojedincima bez te bolesti na početku studije (vakcine, eng. *Vaccine trials*). Preventivne studije mogu biti sprovedene među pojedincima (eng. *Randomised clinical trials*) ili među pripadnicima čitavih zajednica (eng. *Community trials*).

Kontrolnu grupu u epidemiološkim studijama čine subjekti koji nisu izloženi uticaju nekog faktora ili nemaju ishod od značaja za istraživanje. Izbor dobre kontrolne grupe predstavlja prilično zahtevan i kompleksan zadatak.



Slika 4. Neki tipovi epidemioloških studija

U ovom radu će biti opisani samo neki od češće korišćenih tipova analitičkih epidemioloških studija (Slika 4.; [15,16]):

- kohortne studije
- studije parova
- studije preseka

<sup>13</sup>U biomedicini se pod **inicijalnim karakteristikama** podrazumevaju neke osobine koje subjekti imaju u momentu ulaska u istraživanje (pol, starost, telesna težina, telesna visina, rasa, obrazovanje, navike, opšte stanje i sl.; osnovne osobine oboljenja poput težine oboljenja, njegove proširenosti, postojanje hroničnih oboljenja i sl). Inicijalne karakteristike se specificiraju u zavisnosti od karakteristika i ciljeva istraživanja.

<sup>14</sup>Pod terminom **epidemiologija** se, od polovine 20. veka, misli na nauku koja proučava pojavu bolesti i poremećaja zdravlja u ljudskoj populaciji, bez obzira na vrstu uzroka.

**Kohortne studije** (eng. *Cohort study, Panel study*) su najčešće prospektivne studije (osim istorijskih) koje se bave praćenjem grupe subjekata sa osobinama od interesa (kohorte), bez ikakve intervencije nad njima, do ishoda tj. događaja od interesa. U ovim studijama je za ispitivanje povezanosti faktora i ishoda dovoljna samo frekventnost.

U njima nema kontrole raspodele subjekata po grupama<sup>15</sup>. Koriste se u medicini, društvenim naukama, egzaktnim naukama, ekologiji i sl. jer se bave analizom velikog broja faktora. Masivne su i dugo traju jer često prate životne istorije čitavih segmenata stanovništva. Zato su skupe i opterećene problemom smanjenja obima uzorka (eng. *loss to follow up*) što znači da se subjekti gube iz studije usled promene navika, preseljenja, odustajanja, smrti, itd.

**Studije parova** (tj. Studije slučaj-kontrola; eng. *Case-control study*) su retrospektivne studije koje ispituju i porede:

- grupu tzv. *slučajeva* (eng. *Case*) – grupa subjekata sa ishodom od interesa (bolest, stanje)
- i grupu tzv. *kontrola* (eng. *Controle*) – grupa subjekata bez ishoda od interesa (bez bolesti, stanja)

Kao i u kohortnim, i u ovim studijama nema kontrole raspodele subjekata po grupama jer se oni samostalno rasporedjuju u grupe slučajeva/kontrole u zavisnosti od toga da li imaju/nemaju ishod od interesa. Opterećene su tzv. pristrasnošću iz prisećanja (eng. *recall bias* – prisećanje o izloženosti faktorima rizika u prošlosti može biti lažno pozitivno kod subjekata sa ishodom od interesa). Ove studije su u širokoj upotrebi jer mogu da identifikuju veliki broj faktora koji utiču na zdravstveno stanje ljudi, relativno su jeftine, mogu se realizovati u malim timovima ili kao individualna istraživanja. Obično pružaju samo nagoveštaj asocijacije<sup>16</sup> uzroka (faktora) i posledice (ishoda). Sa ovim studijama treba biti veoma obazriv jer retrospektivni element njihovog dizajna može često biti uzrok pogrešnih zaključaka.

**Studije preseka** (eng. *Cross-Sectional*) karakteriše prikupljanje svih informacija u jednoj opservaciji (merenju, ispitivanju, proceni). Najčešće su deskriptivne, u formi ankete, ispituju samo prisustvo ishoda i nemaju opterećenje pristrasnosti iz prisećanja. Studija parova niti problem smanjenja obima uzorka Kohortnih studija. Ove studije predstavljaju klasu istraživačkih metoda koje uključuju opservaciju populacije stanovništva ili reprezentativne podgrupe u jednom određenom trenutku sa ciljem obezbeđivanja i pružanja podataka o njoj. Koriste se za opis neke odlike stanovništva ili pružaju podatke o apsolutnom i/ili relativnom riziku od prevalencije (eng. *PRR - Prevalence Risk Ratio*). Iako su senzitivne na uticaj neidentifikovanih faktora, ipak mogu da pruže nagoveštaj veze između uzroka i posledice, ali bez čvrstih dokaza o njoj.

Rezultati različitih opservacionih studija imaju različitu težinu: najjače rezultate pružaju Kohortne studije, potom Studije parova dok rezultati Studije preseka imaju najmanju težinu.

Uopšteno govoreći, opservacione studije su nekontrolisane te čvrsta uzročno posledična veza između faktora i ishoda ne može biti uspostavljena. Zato one obično služe za ispitivanje naznaka o postojanju asocijacije *faktor-ishod*, a njihovi rezultati najčešće predstavljaju osnovu za generisanje hipoteza novih prospektivnih istraživanja.

<sup>15</sup>Subjekti se samostalno raspoređuju u osnovnu /kontrolnu grupu u zavisnosti da li jesu/nisu izloženi faktoru od značaja za istraživanje – napr. pušači/nepušači

<sup>16</sup>Izuzetak je čuvena studija Ričarda Dola (Sir Richard Doll; *Link between tobacco smoking and lung cancer*) kojom je potvrđena povezanost pušenja i karcinoma pluća.

### 2.1.3. Eksperimentalna istraživanja. Klinički trajali

U eksperimentalnim (intervencijskim) istraživanjima se do podataka dolazi prospektivno i u kontrolisanim uslovima koje određuje istraživač. Ova istraživanja su pogodna za testiranje efikasnosti i bezbednosti leka, procedure ili tehnike jer pružaju najjače dokaze o uzročno-posledičnoj vezi između ispitivanih parametara.

Postoji više vrsta intervencijskih biomedicinskih istraživanja ali će u daljem tekstu biti reči uglavnom o **kliničkim studijama**, kako zbog njihovog posebnog značaja u biomedicini tako i zbog specifičnosti njihovog dizajna i statističkih tehnika koje se koriste u cilju minimiziranja varijabiliteta i pristrasnosti.

*Formalna definicija kliničkog ispitivanja iz osnovnih načela Dobre Kliničke Prakse glasi:*

**Kliničko ispitivanje (klinička studija)** je bilo koje ispitivanje na ljudima (ispitanicima) čiji je cilj da otkrije ili potvrdi kliničke, farmakološke i/ili druge farmakodinamske efekate ispitivanog/ispitivanih proizvoda, i/ili utvrdi bilo koje neželjene reakcije na ispitivani proizvod, i/ili da ispita resorpciju, distribuciju, metabolizam i izlučivanje ispitivanog/ispitivanih proizvoda, da bi se utvrdila njihova podnošljivost i/ili efikasnost. Termin kliničko ispitivanje i klinička studija su sinonimi. [21; str.34]

Što se tiče **etičkih pitanja** [21], u humanoj populaciji se ne izvode eksperimenti koji mogu imati štetan uticaj na zdravlje ispitanika jer je neprihvatljivo ugroziti ičije zdravlje. Stoga je zakonskom regulativom predviđeno da pre početka realizacije, svako kliničko istraživanje mora da odobri tzv. *Etički komitet*. Uz to, svaki istraživač ima i dužnost i obavezu da prekine studiju ukoliko uvidi da ona može imati štetne posledice po zdravlje subjekata u studiji.

Dalje, ni jedan istraživač ne bi trebalo da učestvuje u istraživanju ukoliko smatra da je jedan od ispitivanih tretmana superiorniji jer je to neetično i predstavlja dodatni izvor pristrasnosti.

Zbog različitih problema koji se mogu javiti, eksperimentalne studije moraju da budu pod konstantnim nadzorom. Razni akti definišu regulative ispitivanja, a nadzor često vrši i Etički komitet koji ga je prethodno i odobrio.

- **Klinički trajal**

**Klinički trajal** je prospektivno i pažljivo planirano biomedicinsko istraživanje (eksperiment) nad ljudskim subjekima dizajnirano tako da pruži odgovore na konkretna pitanja o promeni biomedicinskih parametara usled kontrolisane intervencije (vakcine; lekovi; tretmani; aparati; novi načini korišćenja poznatih lekova, tretmana, uređaja), odnosno da obezbedi čvrste dokaze o uzročno-posledičnoj vezi između biomedicinskih parametara i kontrolisane intervencije.

Za ovakva istraživanja u našoj zemlji se koristi termin *kliničke studije*. Međutim, u svakodnevnom govoru i našoj biomedicinskoj praksi, termin *klinička studija* se često koristi i za mnoga druga klinička istraživanja koja nisu obavezno ni eksperimentalna ni prospективna. Da bi se precizirala vrsta kliničkog istraživanja o čijim detaljima će dalje biti govora, u ovom radu će se koristiti termin **klinički trajal**.

U kliničke trajale se ubrajaju i ispitivanja uticaja određenih intervencija na promene u ponašanju ljudskih subjekata uključenih u istraživanje. Uz to, uključivanje ljudskih subjekata u istraživanja koja se bave razvojem ili procenom kliničkih ili laboratorijskih analiza, može se takođe smatrati kliničkim trajalom ukoliko su ispitivane analize namenjene donošenju medicinskih odluka.

Dizajn kliničkih trajala je veoma precisan i mora biti dokumentovan tzv. **Protokolom istraživanja** u kome svi detalji<sup>17</sup> od značaja moraju biti jasno i precizno specificirani pre početka njegove realizacije.

Klinički trajali se često sprovode u cilju ispitivanja novog leka. Naime, razvoj bilo kakvog novog terapijskog agensa (leka) prati niz ispitivanja po fazama sa ciljem obezbeđivanja pre svega sigurnosti njegove primene. Laboratorijski razvoj leka predstavlja početnu fazu njegovog razvoja. Ona uključuje identifikaciju i generisanje leka, testiranje njegove efikasnosti i toksičnosti (pomoću reagenasa, na molekularnom nivou, na eksperimentalnim životinjama i sl.) čime se lek dovodi do faze u kojoj je prepoznatljiv kao agens sa procenjenom efektivnom dozom. Tek tada počinju ispitivanja na ljudima organizovanjem kliničkih trajala.

Kliničkim trajalima ne smo da se može vršiti procena bezbednosti i efikasnosti primene novog leka /procedure kod određenog tipa oboljenja, već i procena da li je novi lek /procedura / uređaj efikasniji od standardnog. Trajalima se može vršiti i procena bezbednosti i efikasnosti drugačijih doza lekova (recimo 10-mg doze umesto uobičajenih 5-mg), već postojećeg leka /procedure za novu indikaciju ili poreediti efikasnost dva ili više postojećih lekova /procedura.

Svi budući učesnici (subjekti, pacijenti) u kliničkom trajalu moraju svesno dati pismeni pristanak (eng. *Informed consent*) za ulazak u istraživanje pri čemu pre toga moraju da dobiju objektivne i detaljne informacije o ispitivanju, njegovim potencijalnim benefitima ali i rizicima. Ovo nije univerzalno pravilo jer postoje slučajevi kada to nije moguće učiniti (deca; nesvesni; vrlo stari/dementni – pristanak tada potpisuju njihovi zakonski staraoci).

Klinički trajali su često namenjeni pacijentima sa posebnim zdravstvenim stanjem koji bi imali najviše koristi od ispitivanog leka / procedure. Zbog toga su kriterijumi za učešće u trajalu često ograničeni na tačno određenu populaciju obolelih.

Broj učesnika u istraživanju ne treba da bude ni preterano mali (rizik od nevalidnih zaljučaka) ali ni nepotrebno veliki (ne treba izlagati riziku veći broj subjekata nego što je neophodno da se donesu statistički pouzdani zaključci). O statističkim tehnikama kojima se obezbeđuje optimalan obim, biće više reči u poglavljju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost: Mehanizmi kontrole*.

Osnovna ideja vodilja u kliničkim trajalima jeste poređenje dve ili više grupa subjekata koje se međusobno razlikuju samo po tretmanu kojem su izložene. Zbog toga ih često nazivaju i *komparativnim kontrolisanim kliničkim studijama*. Da bi se obezbedila takva balansiranost ispitivanih grupa, u planiranju i realizaciji kliničkog trajala se koriste tehnike kojima se minimizira svaki poznati varijabilitet kao i pristrasnost učesnika - pacijenata, istraživača, statističara. O ovim tehnikama biće više reči u poglavljju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost: Mehanizmi kontrole*

**Kontrolnu grupu** u kliničkim trajalima čine subjekti nad kojima je primenjena **standardna procedura/terapija** ili **placebo**<sup>18</sup>. Razvrstavanje subjekata u eksperimentalnu i kontrolnu grupu se vrši na statistički slučajan način (tzv. *randomizacija*) čime se omogućava nepristrasnost izbora. O ovim tehnikama biće više reči u poglavljju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost: Mehanizmi kontrole*.

Tzv. **Placebo kontrola** predstavlja kontrolnu grupu čiji subjekti primaju neaktivnu supstanцу ili intervenciju. Naime, u kliničkim trajalima koji ispituju nove lekove, nekada je etički dozvoljena upotreba placebo kontrole čak i kada postoji standardna terapija<sup>19</sup> jer ona omogućava utvrđivanje

<sup>17</sup>Postavljeni ciljevi istraživanja; izabrane varijable; brojnost i izbor subjekata nad kojima će se istraživanje sprovesti; vrsta, način i dinamika predviđenih merenja tokom realizacije istraživanja; dužina trajanja istraživanja; način zapisa i čuvanja podataka; kontrola ispravnosti podataka; transformacije podataka; predviđene metode statističke analize; načini interpretacije rezultata itd.

<sup>18</sup>Neaktivna supstanca, neaktivna intervencija.

<sup>19</sup>Na primer kod blažih formi dijareje dozvoljava se upotreba placebo iako postoje registrovani lekovi poput Linex-a, Liobif-a, Probiotic-a.

tzv. *placebo-efekta*<sup>20</sup>, a samim tim i stvarne efikasnosti ispitivanog leka. Uz to, Placebo kontrola može da pruži i važne informacije o neželjenim efektima i njihovoj povezanosti sa eksperimentalnim lekom<sup>21</sup>.

- **Podele kliničkih trajala**

Podela kliničkih trajala nije jedinstvena već zavisi od mnogih karakteristika koje su od izuzetnog značaja za istraživanje.

**Podela kliničkih trajala prema fazama:**

- ✓ **Faza I** - ispitivanje sigurnosti (eng. *Dose-escalation study*): kliničkim trajalima faze I ispituje se da li generisani lek (ili nova biomedicinska intervencija) pokazuje očekivani terapijski efekat i da li izaziva bilo kakve neželjene reakcije. Ispitivanje se vrši na manjoj uzoračkoj grupi ljudi (20-80 osoba obično). Parametri od primarnog značaja su sigurnost primene intervencije (recimo utvrđivanje bezbednog opsega doze leka), toksičnost (identifikacija neželjenih efekata, ispitivanje podnošljivosti), različiti biomarkeri (identifikacija promena vrednosti biomarkera kao signala aktivnosti leka), farmakokinetičke i farmakodinamičke karakteristike. Na kraju faze I, identifikovan je potencijalno koristan lek koji u preporučenoj dozi ne daje neprihvatljive neželjene efekte.
- ✓ **Faza II** - ispitivanje najefikasnije doze (eng. *Dose-response study*): kliničkim trajalima faze II ispituje se terapijski efekat novog leka u odnosu na poznatu stopu efikasnosti standardnog leka (kod lekova ispituju se najmanje 3 različite doze leka radi pronalaženja klinički najefikasnije doze). Ispitivanje se sprovodi na većoj uzoračkoj grupi ljudi (od nekoliko desetina do nekoliko stotina osoba) sa ciljem što bolje procene efikasnosti leka uz dalju evaluaciju bezbednosti njegove primene. Parametri od primarnog značaja su klinički potvrđena efikasnost intervencije, različiti biomarkeri, sigurnost primene. Na kraju faze II identifikovan je lek potencijalno bolji od standarnog.
- ✓ **Faza III** – glavno ispitivanje podnošljivosti i efikasnosti: kliničkim trajalima faze III ispituje se efikasnost i podnošljivost leka (ili biomedicinske intervencije) ali na velikim uzoračkim grupama ljudskih subjekata (od nekoliko stotina do nekoliko hiljada). U ovoj fazi se efikasnost leka, potvrđena trajalima faze II, pored sa komparatorom (standardne ili druge eksperimentalne intervencije, u nekim situacijama placebo), prate se negativni efekti i prikupljaju dalje informacije koje omogućavaju njegovu bezbednu upotrebu. Parametri od primarnog značaja su klinički potvrđena efikasnost, dalji neželjeni efekti. Ako novi lek ispolji bolji efekat od komparatora, pokreće se regulatorna procedura za njegovo odobravanje i registraciju, masovnu primenu i marketing.
- ✓ **Faza IV** - postmarketinško praćenje: klinički trajali faze IV se sprovode nakon odobravanja i registrovanja leka (intervencije). U ovoj fazi se prati efikasnost registrovanog leka (odobrene intervencije) u opštoj populaciji i prikupljaju se informacije o eventualnim neželjenim dejstvima povezanim sa njegovom široko rasprostranjenom upotrebotom.

---

<sup>20</sup> Neke pojave ili stanja se spontano saniraju i prolaze, bez upotrebe lekova - zarastanje ogrebotine; prolazak blaže forme virusne / bakterijske / gljivične infekcije poput gripa, dijareje; itd. Spontani efekat izlečenja ili poboljšanja ne treba pripisati efektu ispitivanog leka.

<sup>21</sup> Recimo, ako bi broj glavobolja, kao sporednog neželjenog efekta, bio isti ili sličan u placebo i eksperimentalnoj grupi, onda glavobolja ne bi mogla biti proglašena neželjenim dejstvom ispitivanog leka.

**Podela kliničkih trajala prema svrsi:**

- ✓ Prevencijski trajali (eng. *Prevention trials*) usmereni ka pronalaženju boljih načina za sprečavanje bolesti kod ljudi koji nikada nisu imali određenu bolesti ili ka sprečavanju ponovnog oboljevanja
- ✓ Skrining trajali (eng. *Screening trials*) usmereni ka pronalaženju boljih načina za otkrivanje određenih bolesti/stanja
- ✓ Dijagnostički trajali (eng. *Diagnostic trials*) usmereni ka pronalaženju boljih testova ili procedura za dijagnostikovanje određenih bolesti ili stanja
- ✓ Tretmanski trajali (eng. *Treatment trials*) usmereni ka testiranju eksperimentalnih tretmana, novih kombinacija lekova, novog operativnog / zračnog pristupa
- ✓ Trajali pomoći i nege (eng. *Quality of life trials; supportive care trial*) usmereni ka pronalaženju načina da se poboljša udobnost i kvalitet života obolelih osoba

**Podela kliničkih trajala prema dizajnu:**

- ✓ Paralelne grupe (eng. *Parallel-group*) - svaki učesnik se svrstava u neku od terapijskih grupa na statistički slučajan način (randomizacija)
- ✓ Unakrsni (eng. *Crossover*) - tokom vremena, svaki učesnik dobija najpre jednu pa potom drugu terapiju pri čemu se izbor prve terapije bira na statistički slučajan način
- ✓ Podeljeno telo / Podeljen segment (eng. *Split-body / Split-Plot*) - svaki učesnik dobija različite procedure na različitim delovima tela (recimo jedna krema se maže na levu stranu lica a druga na desnu)
- ✓ Klaster (eng. *Cluster*) - već postojeće grupe učesnika (klasteri) nasumično su odabrani da dobiju jednu od ispitivanih terapija
- ✓ Faktorijalni (eng. *Factorial*) - svaki učesnik se slučajno svrstava u neku od terapijskih grupa<sup>22</sup>.

**Podela kliničkih trajala prema hipotezama:**

- ✓ Klinički trajali superiornosti (eng. *Superiority trials*) – treba da potvrde da je jedan tretman klinički značajno superiorniji od drugog
- ✓ Klinički trajali neinferiornosti (eng. *Noninferiority trials*) – treba da potvrde da jedan tretman nije klinički inferiorniji od drugog, referentnog tretmana
- ✓ Klinički trajali ekvivalentnosti (eng. *Equivalence trials*) – treba da potvrde da nema klinički značajne razlike u efikasnosti između dva tretmana.

Nekada je zbog slabe učestalost pojedinih oboljenja ili radi brže realizacije, potrebno organizovati tzv. ***multicentrični trajal*** koji se istovremeno sprovodi u više medicinskih centara. Tada se posebno vodi računa o sinhronizaciji svih segmenata njegovog planiranja, realizacije i prikupljanja podataka.

Dizajn kliničkog trajala dozvoljava kombinacije raznih elemenata svake od navedenih podela.

---

<sup>22</sup>Na primer, I grupa pacijenata dobija vitamine X i Y; II grupa dobija placebo i vitamin Y; III grupa dobija vitamin X i placebo; IV grupa dobija dva puta placebo.

#### 2.1.4. Pilot studije. Meta analize

**Pilot studije** (eng. *Pilot Study*) ili **Studije izvodljivosti** (eng. *Feasibility study*) predstavljaju manja, preliminarna ispitivanja koje se sprovode u cilju procene opravdanosti nekog istraživanja (postojanje efekta, dužina i kompleksnost realizacije, cena, neželjeni događaji i sl.) kao i pripremu istraživanja većih razmara. Pilot studije obezbeđuju prve informacije potrebne za predikciju obima ispitivanih grupa, poboljšanje dizajna, maršute administriranja (dinamika i dužina doziranja) ali i informacije o mogućim ograničenjima koja se moraju uvažavati pre pokretanja opsežnijih studija.

**Meta analize** (eng. *Meta-analysis*) predstavljaju istraživanja čiji rezultati nastaju primenom metoda statističke analize kojima se kombinuju rezultati ili podaci više sličnih, manjih i nezavisnih istraživanja. Metodama meta-analize se obezbeđuje procena karakteristika od primarne važnosti sa više preciznosti i to:

- kombinovanjem rezultata više studija sa istim/sličnim naučnim hipotezama gde više dostupnih informacija pruža potpuniju sliku o određenoj hipotezi
- kombinovanjem ocena parametara iz svake studije pojedinačno (napr. *Procena proseka* /eng. *Weighted average/*) gde više dostupnih informacija pruža precizniju procenu parametra od značaja (obimnijim i korektnijim studijama se uvek daje veća težina)
- kombinovanjem podataka o pacijentima u svakoj od studija uključenih u Meta-analizu (eng. *Pooled analysis*) čime je omogućena preciznija estimacija parametara od značaja

Meta-analize se najčešće koriste za bolju procenu efekta tretmana (nekada je to jedini način za dokaz efikasnosti) kombinujući podatke/rezultate dva ili više manjih kliničkih studija sa istim ključnim pitanjem. Sa druge strane, kombinovanjem svih podataka o bezbednosti tretmana, dobija se najbolja šansa za otkrivanje neželjenih događaja.

Kvalitet rezultata Meta-analize zavisi kako od kriterijuma za uključivanje studija u Meta-analizu (tzv. interna i eksterna validnost istraživanja) tako i od primenjenih statističkih tehniki.

Cilj dobre meta-analize usmeren je ka uključenju svih relevantnih studija, pronalaženju prisustva i izvora heterogenosti kao i istraživanju robusnih nalaza primenom tzv. Analiza osetljivosti.

I za kraj ovog poglavlja, treba naglasiti da dosadašnjim izlaganjem nisu iscrpljeni svi tipovi istraživanja - ni kliničkih ni biomedicinskih. O nekim tipovima ispitivanja biće još reči u poglavlju 3. *Statistika u fazi planiranja istraživanja*, ali samo u cilju ilustrovanja specifičnosti njihovog dizajna.

Uz to, izbor kliničkih istraživanja (posebno kliničkih trajala) kao modela za primeni statistike, nema za cilj davanje manjeg značaja nekliničkim ili drugim biomedicinskim istraživanjima. Naprotiv. Svako istraživanje u oblasti biomedicine ima neke svoje specifičnosti uslovljene oblašću istraživanja, metodologijom, tehnikama, te neki dizajn može biti veoma delikatan ali i netipičan za većinu drugih istraživanja.

Čak i klinički trajali iste faze međusobno se značajno razlikuju po oblasti ispitivanja, karakteristikama pacijenata, ciljevima istraživanja, eksperimentalnim tretmanima, karakteristikama uzorka, varijablama od značaja, dinamici merenja, trajanju i sl. Međutim, i pored takvih razlika, većina kliničkih trajala ima zajedničke i prepoznatljive principe, mehanizme i dokumentaciju vezanu za njihovo planiranje što čini jednostavnijim davanje preporuka za njihov dizajn, realizaciju, analizu i interpretaciju rezultata.

Uz to, veoma strogi i zahtevni normativi (etički, zakonski, klinički) nameću brojne specifičnosti dizajnu kliničkih trajala i jasno preciziraju ulogu statistike u njima. Na taj način klinički trajali služe kao model za dalje preciziranje mesta statistike u ostalim tipovima istraživanja, ne samo u oblasti biomedicine već i šire.

## 2.2. Neki statistički pomovi u biomedicini

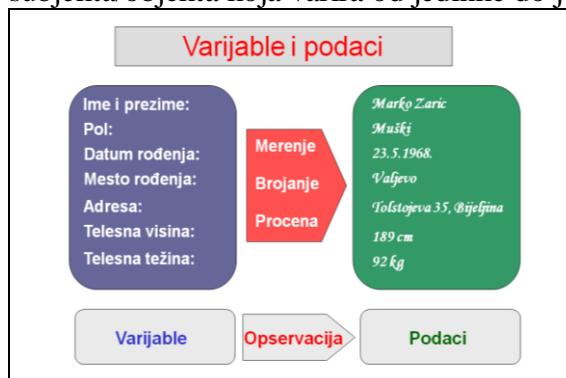
Statističarima često predstavlja problem razumevanje specifične terminologije biomedicine. Ali i stručnjacima biomedicine često predstavlja problem da pravilno usvoje pojam varijable, obeležja ili funkcije raspodele, koncept statističkog testiranja i odlučivanja, stvarno značenje p-vrednosti, 95% intervala poverenja i sl. Usled toga je saradnja statističara i stručnjaka biomedicine često opterećena uzajamnim nerazumevanjem.

U želji da se poboljša komunikacija i saradnja statističara i stručnjaka biomedicine, u ovom poglavlju su ne samo izloženi neki važni pojmovi iz oblasti biomedicine, već i dati primeri kako da se važni statistički pojmovi na intuitivnom nivou objasne nematematičarima.

### 2.2.1. *Varijable i podaci u biomedicini*

Pojmovi varijabli u matematici (tj. u teoriji verovatnoće i statistici) i biomedicini se značajno razlikuju te zbog toga često dolazi do nerazumevanja statističara i stručnjaka biomedicinske struke. U daljem tekstu će biti objašnjeni neki od tipova varijabli i podataka u biomedicini.

**Varijabla** (slučajna promenljiva, slučajna veličina) predstavlja određenu karakteristiku subjekta/objekta koja varira od jedinke do jedinke, kroz vreme (Slika 5.).



Opservacijama (merenjem, brojanjem, opažanjem, procenom) nad subjektima/objektima istraživanja, varijable dobijaju konkretne vrednosti. To su tzv. **Podaci** tj. uzoračke vrednosti jedne varijable (Slika 5.; [15,16]).

Varijable u biomedicini se mogu klasifikovati na više načina. U daljem tekstu biće navedene neke od njihovih najčešćih podela.

Slika 5. Varijable i podaci

#### ➤ *Podela podataka i varijabli po tipu mernih skala*

Poznato je da se varijable u matematici razlikuju po diskretnoj i neprekidnoj raspodeli. U biomedicini se koristi nešto drugačija podela varijabli koja potiče od psihologa Stenlija Smita Stivensa<sup>23</sup> gde se polazi od vrsta podataka u biomedicini a zatim vrši klasifikacija pripadajućih varijabli.

Naime, Stivens je zaključio da se podaci u biomedicini razlikuju po količini informacija koju njihove merne skale pružaju te razlikuje:

- **kvalitativne (kategorne) podatke** – koji se odnose na kvalitativna svojstva te zbog malog broja informacija koje sobom nose, ovi podaci omogućavaju merenje samo u smislu određivanja pripadnosti određenim kategorijama.

<sup>23</sup> Umesto standardnih nivoa merenja (skala merenja), Stenli Smit Stivens je 1946. godine predložio svoju teoriju u naučnom radu *O teoriji mernih skala* (eng. *On the theory of scales of measurement*) gde zaključuje da se sva merenja podataka u nauci mogu sprovesti pomoću četiri različite vrste skala koje je on nazivao *nominalnom*, *ordinalnom*, *intervalnom* i *srazmernom skalom*, razdvajajući tako *kvalitativne* i *kvantitativne* podatke. Stivens je ovakvu podelu predložio upravo zbog nepostojanja mernih skala za razna psihološka stanja koja su veoma važna za istraživanja u psihologiji. Kako u biomedicini uopšte postoji puno kvalitativnih karakteristika, to je u njoj, u manje-više izmenjenoj formi, usvojena Stivensova podela podataka po svojstvima mernih skala što je dalje uslovilo i odgovarajuću podelu varijabli.

- **kvantitativne (numeričke) podatke** – koji se odnose na kvantitativna svojstva te nose više informacija koje se dobijaju merenjem pomoću preciznih mernih skala.  
Kvalitativni (kategorjni) podaci imaju sledeće karakteristike:
  - svaki podatak pripada tačno jednoj kategoriji (uzima tačno jedan tip vrednosti)
  - postoji konačan broj kategorija
  - kategorije su ili neuporedive ili imaju prirodnu gradaciju bez preciznih razlika

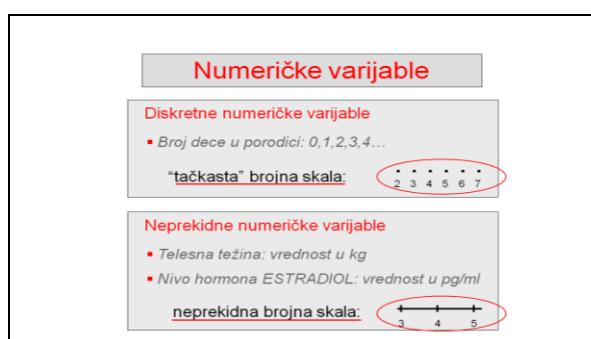
**Kvalitativne (kategorne) varijable** su one varijable kojima se opisuju kvalitativna svojstva i čije su uzoračke vrednosti kategorni podaci. Kod ovih varijabli nema prirodne numeracije jer su njihove kategorije kvalitativne te im se brojne vrednosti samo arbitrarno dodeljuju radi lakše manipulacije (analiza, prikaz). Dele se na:

- **nominalne varijable** koje karakteriše odsustvo prirodne gradacije između kategorija<sup>24</sup>. Nose minimum informacija i nad njima je moguće sprovesti samo najjednostavnije operacije poput ekvivalencije i pripadnosti. Mogu imati 2 kategorije (*pol*: muški, ženski; *anemija*: prisustvo, odsustvo; *pušački status*: pušači, nepušači) ili 3 i više kategorija (*krvna grupa*: O, A, B, AB; *bračni status žene*: neudata, udata, razvedena, udovica). Kada imaju samo dve kategorije, često se koriste kao tzv. indikatori<sup>25</sup>.
- **ordinalne varijable** koje karakteriše prisustvo neke vrste prirodne gradacije između kategorija ali bez precizne razlike između njih<sup>26</sup> jer se kategorije često formiraju na osnovu subjektivnih procena (recimo jačina bola) ili baziraju na svojstvima nedovoljno poznatih faktora. To su varijable poput pušačkog statusa (*pušači*; *bivši pušači*; *nepušači*); Dijabetes Melitusa (*dijabet tipa I*; *dijabet tipa II*; *bez dijabeta*), jačine bola (*bez bola*; *blag bol*; *umeren bol*; *jak bol*; *neizdrživ bol*), opšte stanje pacijenta (tzv. *performans status po ECOG skali*: 0,1,2,3,4,5), kliničkog stadijuma tumora (*0,I,II,III,IV*). Nazivaju se još i uređenim kategornim varijablama.

Kvantitativni (numerički) podaci imaju sledeće karakteristike:

- svakom podatku je dodeljena odgovarajuća numerička vrednost
- numeričke vrednosti pripadaju diskretnoj ili neprekidnoj mernoj skali
- postoje precizne razlike između numeričkih vrednosti

**Kvantitativne (numeričke) varijable** su one varijable kojima se opisuju kvantitativna svojstva i čije su uzoračke vrednosti kvantitativni (numerički) podaci. Kod ovih varijabli postoji prirodna numeracija, vrednosti su uređene i postoje precizne razlike između njih jer su im **dodeljene precizne brojne vrednosti**. Pružaju najviše informacija i omogućavaju brojne operacije.



Slika 6. Tipovi kvantitativnih varijabli

Numeričke varijable mogu biti diskretne (broj dece u porodici) ili neprekidne (starost, krvni pritisak, nivo hemoglobina u krvi)

- **Diskrete numeričke varijable** - vrednosti pripadaju diskretnoj brojnoj skali.
- **Neprekidne numeričke varijable** - vrednosti pripadaju neprekidnoj brojnoj skali (Slika 6.; [15,16]).

<sup>24</sup>U smislu da se teško može reći šta je bolje/lošije, veće/manje ili slabije/jače/najjače bez uvođenja novog faktora, svojstva.

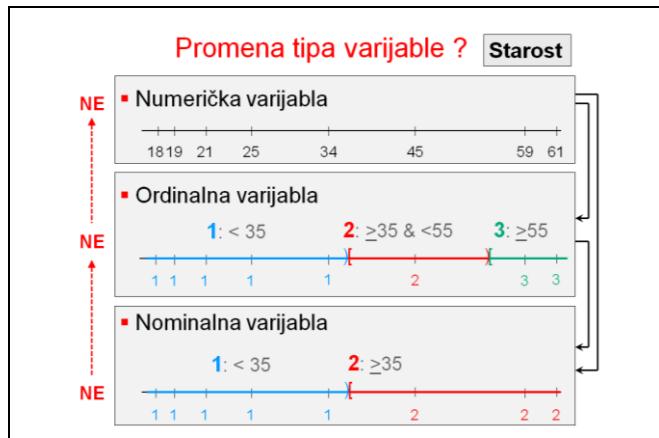
<sup>25</sup>Na primer, normalne vrednosti biohemičkih transaminaza: *iznad 30 U/L* itd.

<sup>26</sup>U smislu da se može reći šta je veće/manje ili slabije/jače/najjače bez uvođenja nekog novog faktora ili svojstva ali se razlike između kategorija ne mogu precizno izmeriti.

Stručnjacima biomedicine uvek treba naglasiti da podatke prikupljaju u originalnoj formi, kada god je to moguće. Naime, često se dešava da se numerički podaci bespotrebno kategorisu tj. grupišu po nekom uslovu ili kriterijumu i čuvaju isključivo u takvoj formi, što za posledicu često ima trajan gubitak originalnih podataka.

Zato je veoma važno istaći da kvantitativna varijabla može da se ponaša kao kvalitativna:

- ako uzoračke vrednosti pripadaju manjem skupu vrednosti (recimo, varijabla *Broj dece u porodici* u uzorku ima isključivo vrednosti: 0, 1 i 2; *Starost pacijenata*: 60 i 61 godina),
- ako su uzoračke vrednosti kategorisane nekim uslovom (recimo varijabla starost sa vrednostima 1 - ako je starost  $<35$  god. i 2 – ako je starost  $\geq 35$  god.).



Slika 7. Promena tipa varijable

**Kategorisanjem vrednosti** numeričke varijable, može se generisati nova, ordinalna varijabla (Slika 7.; [15,16]).

Slično, kategorisanjem vrednosti numeričke ili ordinalne varijable, može se generisati nova nominalna varijabla, često indikator (Slika 7; [15,16].).

Ukoliko su zabeležene samo kategorisane vrednosti (bez originalnih numeričkih podataka), obrnut proces nije moguć!

Ovo pravilo treba uvek naglasiti stručnjacima biomedicine jer bez dovoljno pažnje u fazi planiranja, u fazi merenja ili prikupljanja podataka, može doći do nepovratnog gubitka originalnih numeričkih podataka čime se, između ostalog, sužava skup mogućih ili primenljivih statističkih metoda.

Zato treba naglasiti da su numeričke varijable uvek najbolji izbor jer omogućavaju primenu širokog spektra statističkih testova i drugih tehnika dok ordinalne i nominalne varijable sužavaju taj skup na užu klasu metoda koje su daleko manjih moći (često samo tabele kontigencije).

### ➤ *Još neki tipovi podataka u biomedicini*

Kategorjni i numerički podaci nisu jedini tipovi podataka koji se koriste u biomedicini. U daljem tekstu se pominju još neki od češćih tipova.

#### 1. Rangovi (eng. *Ranks*)

Rangovi podataka predstavljaju relativne položaje podataka u odnosu na neki postavljen uslov. Najčešće je rangiranje od najmanje do najveće vrednosti podataka (sortiranje u rastućem poretku). Rangirani podaci su izvorno retki u svakodnevnoj biomedicinskoj praksi ali je ideja rangiranja primenljiva i veoma važna - recimo, kada u kliničkom istraživanju isti subjekti primaju 2 ili više terapija, veoma je važno znati redosled terapija.

Sa druge strane, u statistici se čitava klasa testova bazira na rangovima podataka umesto na njihovim stvarnim vrednostima.

#### 2. Procenti (eng. *Percentages*)

Veoma često se koriste u biomedicini kao mera odnosa (količnik) dve numeričke veličine. Omogućavaju poređenje grupa različitih obima. Koriste se za opis i prikaz kategornih varijabli.

### **3. Stopa i stope (eng. *Ratio and Ratios*)**

Na sličan način kao i procenti, i tzv. stope se često koriste u biomedicini kao mera odnosa (količnik) dve numeričke veličine. Tako se recimo stopa mortaliteta (stopa smrtnosti) računa kao godišnji broj smrtnih slučajeva (od bolesti ili generalno) na 1000 stanovnika. Upotreba stopa je česta u demografskoj statistici i epidemiologiji. U biomedicini su česte sledeće stope:

- opšta stopa nataliteta stanovništva - broj živorođenih na 1000 stanovnika tokom jedne godine
- opšta stopa mortaliteta - broj umrlih na 1000 stanovnika tokom jedne godine
- stope morbiditeta- broj obolelih u odnosu na ukupan broj stanovništva
- fetalna stopa mortaliteta (stopa mrtvorođenja) - broj fetalnih smrти u odnosu na ukupan broj rođenja u dатој godini (računajući i živorođenja i mrtvorođenja), itd.

### **4. Ocene (eng. Scores)**

Usled nemogućnosti ili kompleksnosti direktnog merenja, često se koriste posredne ocene pomoću kojih se određena svojstva na neki način procenjuju. Postoje brojne ocene u biomedicini<sup>27</sup>

### **5. Verbalne skale (eng. *VRS-Verbal rating scales*)**

Koriste se obično za procenu subjektivnih tegoba (jačina bola: bez bola; blag bol; umeren bol; jak bol; neizdrživ bol). Mogu imati više stepeni težine ili jačine. Obično su u upotrebi trostepene ili petostepene skale. Često se koriste u psihologiji, defektologiji, medicini kroz ankete kojima se ispituje kvalitet života, određeni poremećaji, stanja i sl.

### **6. Vizuelne analogne skale (eng. *VAS-Visual analogue scales*)**

Grafički način za opisivanje subjektivne procene nekih tegoba ili stanja. Na liniji dugoj obično 10 cm sa označenim krajnjim vrednostima (0-bez bola; 10-neizdriv bol) pacijent, najčešće samostalno, beleži ličnu procenu tegoba, stanja, osećanja. Kasnije se merenjem dobijaju precizne numeričke vrednosti. Ovi podaci mogu biti veoma neobjektivni ukoliko pacijentima nisu pružene detaljne i razumljive instrukcije kako da procenjuju i beleže svoje tegobe ili stanja.

### **7. Numeričke srazmerne skale (eng. *NRS-Numerical rating scales*)**

Grafički način subjektivne procene nekih tegoba ili stanja. Na liniji dugoj 10 cm sa označenim krajnjim vrednostima (0-bez bola; 10-neizdriv) i međuvrednostima (1,2,3,4,5,6,7,8,9) pacijent beleži ličnu procenu tegoba. Ovi podaci su nešto pouzdaniji od VAS skale ali takođe mogu biti veoma neobjektivni ukoliko pacijentima nisu pružene detaljne i razumljive instrukcije kako da procenjuju i beleže svoje tegobe ili stanja.

## **➤ Podela varijabli na nezavisne / zavisne**

Kao i u matematici, i u biomedicinskim istraživanjima se razlikuju nezavisne i zavisne varijable. Njih nije jednostavno uopšteno definisati zato što imaju različito značenje u različitim tipovima biomedicinskih istraživanja.

U eksperimentalnim istraživanjima, i uopšte intervencijskim studijama, nezavisne varijable su obično nominalne a zavisne varijable su najčešće od primarnog značaja za istraživaje. U njima varijabla kojom se interveniše predstavlja nezavisnu varijablu (u smislu njene nezavisnosti od početnih karakteristika subjekata, stanja bolesti i sl.). Ostale varijable, od kojih se очekuje da se

<sup>27</sup>Napr. ECOG skala performans statusa (vrednosti: 0,1,2,3,4,5,6) za procenu opšteg stanja bolesnika; imunohistohemijski status HER2 - humanog epidermalnog faktora rasta 2 (vrednosti: +, ++ ,+++); Apgar ocena (eng. *Apgar score*) - test koji je osmisnila dr Virdžinija Apgar, anestesiolog i pedijatar, u cilju brže i preciznije orientacije o stanju deteta neposredno nakon rođenja. Ova ocena predstavlja sumu ocena sledećih pet karakteristika: boje kože, srčane radnje, disanja, mišićnog tonusa i odgovora na stimulaciju. Svaka od navedenih karakteristika ocenjuje se ocenom od 0-2, pa je najbolja moguća zbirna ocena 10, a najlošija 0. Ocenu daje ginekolog ili pedijatar u porodilištu.

menaju pod uticajem intervencije, predstavljaju zavisne varijable i njihove vrednosti se tokom eksperimenta mere, registruju, opisuju<sup>28</sup>.

U opservacionim studijama takođe se razlikuju zavisne i nezavisne varijable, ali se nezavisnost varijabli ne može posmatrati u navedenom kontekstu, obzirom da se u opservacionim studijama vrši samo posmatranje, bez intervencija. U ovim studijama, varijable se samostalno razvrstavaju u klase nezavisnih ili zavisnih, u odnosu na neke već postojeće karakteristike subjekata<sup>29</sup>.

Uopšte, nezavisnost ili zavisnost varijabli kao i nezavisnost ili zavisnost podataka često predstavlja problem u biomedicinskim istraživanjima. Bez dovoljno pažnje i preciznog definisanja nezavisnosti ili zavisnosti varijabli i podataka, mogu se načiniti ozbiljne greške kako u izboru i primeni statističke metodologije tako i u zaključivanju. Zbog navedenog, o ovoj problematici će biti više reči u narednim poglavljima rada.

#### ➤ **Podela varijabli po ulozi u istraživanju**

Pored navedenih podela varijabli, one se klasifikuju i po ulozi koju imaju u istraživanju:

- **Primarna varijabla** (eng. *Primary Variable*) – služi za verifikaciju primarnog cilja istraživanja (obično mera efikasnosti terapije u eksperimentalnim studijama). Njen izbor zavisi od tipa i oblasti istraživanja. Obično postoji samo jedna primarna varijabla i ona se koristi za određivanje obima uzorka.
- **Sekundarne varijable** (eng. *Secondary Variables*) – pružaju podršku primarnoj varijabli i ne treba da ih bude previše (treba da se odnose na ograničen broj pitanja od interesa za istraživanje).
- **Mešovite varijable** (eng. *Composite Variables*) - koriste se u slučaju nemogućnosti evaluacije jedne primarne varijable tokom više merenja<sup>30</sup>.
- **Varijabla globalne procene** (eng. *Global Assessment Variables*) - pruža informacije o opštem utisku istraživača o stanju bolesti ili promeni stanja bolesti.
- **Višestruka primarna varijabla** (eng. *Multiple Primary Variables*) - koristi se kada postoji potreba za više primarnih varijabli, od kojih svaka može da bude u službi ispitivanja primarnog cilja.
- **Surogat varijabla** (eng. *Surrogate Variables*) - omogućava indirektno merenje pojave od značaja u slučajevima kada to direktno nije izvodljivo.
- **Ostale varijable** - varijable kojima se opisuju kriterijumi za uključivanje/isključivanje subjekata iz studije, demografske karakteristike subjekata, faktori rizika ili pružaju informacije o prekidu terapije.

O nekima od ovih varijabli, biće više reči u poglavljima 3.2. *Izbor varijabli za verifikaciju ciljeva* i 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole*.

<sup>28</sup>Recimo, u lečenju anemičnih osoba, ordinira se terapija suplementima gvožđa u cilju povećanja vrednosti hemoglobina. Tada je nezavisna varijabla - terapija suplementima gvožđa, a zavisna – hemoglobin.

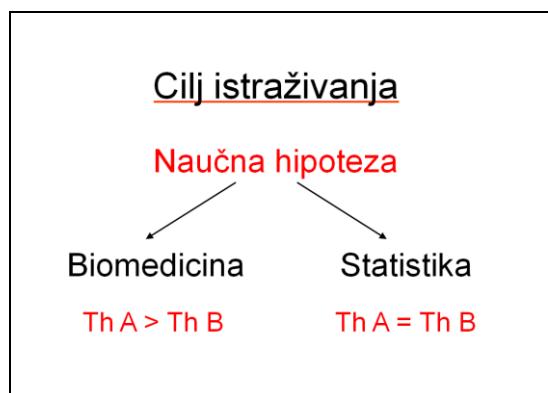
<sup>29</sup>Na primer, poznato je da su muškarci uglavnom viši i teži od žena. Zato se u opservacionom istraživanju pol može proglašiti nezavisnom varijablom a telesna visina i telesna težina zavisnim varijablama.

<sup>30</sup>Na primer, nije opravdano svakog meseca raditi snimak RTG-om ili skenerom te se oni prmenjuju na 3 ili 6 meseci, a u međuvremenu se koristi ultra-zvuk ili neka druga metoda.

## 2.2.2. Hipoteza, statistički koncept odlučivanja i p-vrednost u biomedicini [15,16]

U cilju intuitivnog razumevanja koncepta statističkog testiranja, odlučivanja i značenje p-vrednosti od strane stručnjaka biomedicine, u ovom i naredna dva poglavlja dat je primer jednog takvog pristupa.

Naime, treba poći od same formulacije polazne (naučne, istraživačke) hipoteze kroz koju se iskazuje cilj svakog istraživanja. Njena formulacija u biomedicini i statistici se najčešće razlikuje.



U hipotetičkom kliničkom istraživanju, neka je cilj istraživanja formulisan kroz sledeću naučnu hipotezu: *terapija A (ThA) je efikasnija od terapije B (ThB)*. To je tzv. istraživačka (polazna) hipoteza u biomedicini koja se istraživanjem želi potvrditi, dokazati (Slika 8. i Tabela 1.).

U statistici, polazna hipoteza je tzv. *Nulta hipoteza* (oznaka:  $H_0$ ) koja glasi: *nema razlike u efikasnosti između ThA i ThB*. Ova hipoteza se statističkom metodom želi opovrgnuti.

Slika 8. Formulacija polazne hipoteze

Tabela 1. Istraživačka hipoteza u biomedicini i Nulta hipoteza u statistici

Oblast	Polazna naučna hipoteza	Zapis	Akcija
Biomedicina	Terapija A je efikasnija od terapije B	ThA>ThB	<u>Dokazati</u>
Statistika	Nema razlike u efikasnosti između terapija A i B	ThA=ThB	<u>Opovrgnuti</u>

Hipoteza suprotstavljena nultoj, u statistici se naziva *Alternativna hipoteza* (oznaka:  $H_a$  ili  $H_1$ ). Ona se uvek poklapa sa istraživačkom hipotezom u biomedicini i njom se iskazuje tačno jedan od sledećih stavova (tvrđnji):

- ✓ Efikasnost terapije A i terapije B se razlikuju ( $H_a: ThA \neq ThB$  vs.  $H_0: ThA = ThB$ )
- ✓ Terapija A je efikasnija od terapije B ( $H_a: ThA > ThB$  vs.  $H_0: ThA \leq ThB$ )
- ✓ Terapija A je manje efikasna od terapije B ( $H_a: ThA < ThB$  vs.  $H_0: ThA \geq ThB$ )

Alternativna hipoteza  $H_a: ThA \neq ThB$ , naziva se *dvostrana hipoteza* zato što se njom ne ispituje smer razlike već samo njeno postojanje (nije važno da li je ThA bolja od ThB ili obrnuto već samo da se razlikuju).

Svaka od hipoteza  $H_a: ThA > ThB$  i  $H_a: ThA < ThB$  naziva se *jednostrana hipoteza* jer se njima ispituje postojanje razlike u tačno određenom smeru.

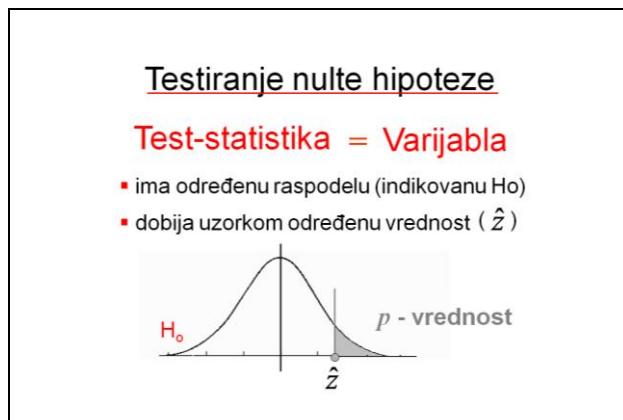


Slika 9. Odlučivanje

**Testiranje nulte hipoteze** jeste proces kojim se ispituje konzistentnost podataka dobijenih istraživanjem (eksperimentom) sa nultom hipotezom. To znači da ukoliko se u podacima pronađu dokazi protiv nulte hipoteze (u vidu ekstremnih rezultata sa stanovišta pretpostavljene  $H_0$ ), ona se odbacuje u korist alternativne  $H_a$  (Slika 9.).

Proces testiranja nulte hipoteze se sprovodi primenom odgovarajuće statističke metode<sup>31</sup>. U osnovi svake analitičke statističke metode jeste tačno odredena *Test-statistika* ( $\chi^2$ ,  $t$ ,  $z$ , itd.) pomoću koje se ispituje konzistentnost (saglasnost) uzoračkih vrednosti sa pretpostavljenom  $H_0$ .

Radi jednostavnije ilustracije procesa testiranja nulte hipoteze, koristi se primer kada pod pretpostavljenom nultom hipotezom test-statistika ima normalnu raspodelu i kada je alternativna hipoteza jednostrana.



Slika 10. Test-statistika i p-vrednost

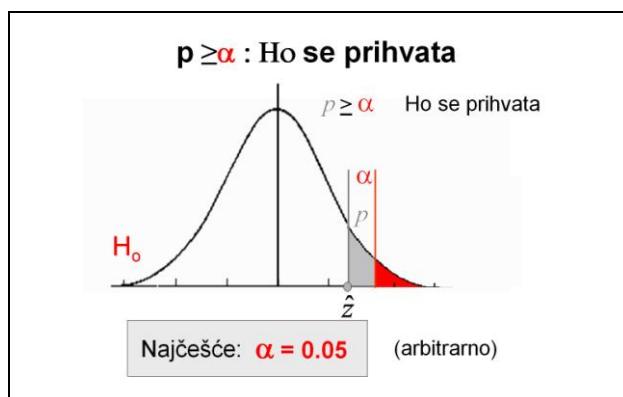
**Test-statistika je varijabla** koja:

- ima funkciju raspodele<sup>32</sup> jednoznačno određenu pretpostavljenom  $H_0$
- dobija tačno određenu vrednost ( $\hat{z}$ ) na osnovu uzoračkih vrednosti.

Vrednost  $\hat{z}$  na krivoj gustine normalne raspodele odseca *rep* površine  $p$  (Slika 10). Taj *rep* ustvari predstavlja tzv. **p-vrednost** čija se vrednost uvek nalazi u intervalu od 0-1 tj. važi da je  $0 \leq p \leq 1$ .

Dobijena p-vrednost jeste samo jedan broj, te se on jedino može uporediti sa nekim drugim brojem. Tako se odluka o prihvatanju ili odbacivanju  $H_0$  donosi upoređivanjem dobijene p-vrednosti sa nekom **unapred zadatom vrednošću  $\alpha$**  (arbitrarna vrednost; najčešće je  $\alpha=0.05$  mada se koristi i  $\alpha=0.01$ ).

Moguće su sledeće dve situacije:



Slika 11. Slučaj kada je  $p > \alpha$

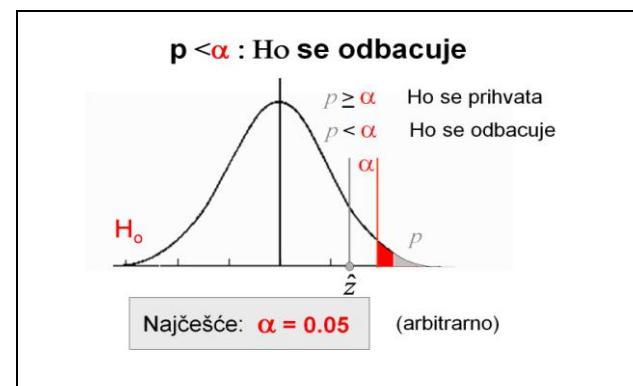
#### ▪ I situacija

Dobijena p-vrednost (sivi rep površine  $p$ ; Slika 11.) je veća ili jednaka vrednosti  $\alpha$  (crveni rep površine  $\alpha$ ; Slika 16.). To znači da uzorački podaci nisu pružili dovoljno informacija o njihovoj nekonzistentnosti sa pretpostavljenom nultom hipotezom.

**Tada se  $H_0$  prihvata.**

<sup>31</sup>Na primer pomoću statističkih testova ili drugih metoda (razne varijante t-testa; ANOVA, itd.) sa kojima se stručnjaci biomedicine upoznaju tokom svojih poslediplomskih, a poslednjih godina sve više i tokom osnovnih akademskih studija kroz nastavu medicinske ili druge statistike.

<sup>32</sup>Za većinu stručnjaka biomedicine, matematičke definicije funkcije raspodele predstavljaju teško usvojive pojmove, te se u komunikaciji sa njima treba uglavnom ograničiti na intuitivno razumevanje - da varijable u biomedicini, bez obzira na njihov tip, karakteriše skup mogućih uzoračkih vrednosti kao i učestalost pojave tih vrednosti čime je jednoznačno određena tzv. funkcija raspodele verovatnoća.



Slika 12. Slučaj kada je  $p < \alpha$

Broj  $\alpha$  poznat je i kao **granica statističke značajnosti**. Interpretacija njegovog smisla je neodvojiva od pojmove i interpretacije tzv. **grešaka u odlučivanju**.

### 2.2.3. Greške I/II vrste i snaga studije u biomedicini [15,16]

Razumevanje i pravilno usvajanje tzv. grešaka I i II vrste u statistici često je težak zadatak za stručnjake biomedicine. Međutim, korišćenjem analogije sa greškama u dijagnostičkim procedurama, pojmovi grešaka I i II vrste postaju bar intuitivno jasniji.

Neka se u hipotetičkom kliničkom istraživanju ispituje efikasnosti terapije A (ThA) u odnosu na terapiju B (ThB) i neka su polazne hipoteze postavljene na sledeći način:  $H_0$  - Nema razlike u efikasnosti između terapija A i B nasuprot  $H_a$  - Terapija A je efikasnija od terapije B.

Treba naglasiti da se u procesu statističkog odlučivanja o nultoj hipotezi, mogu načiniti tzv. greške I i II vrste. Te greške su u potpunoj analogiji sa greškama koje se mogu javiti primenom dijagnostičke metode, recimo mamografije<sup>33</sup>.

Dijagnostički test		
Mamografija	PH nalaz	
	Benigno	Maligno
	Lažno +	Korektno
	Korektno	Lažno -

Neka mamografski nalaz ukazuje na suspektnu promenu (sumnja na malignitet) i neka je kasnijom patohistološkom (PH) analizom potvrđena benigna promena. Tada je načinjena dijagnostička greška jer je postavljen **lažno pozitivan mamografski nalaz** (Slika 13.).

I obratno. Neka mamografski nalaz ukazuje na benignu promenu (B.O.) i neka je kasnijom PH analizom potvrđen malignitet. Tada je načinjena dijagnostička greška jer je postavljen **lažno negativan mamografski nalaz**.

Slika 13. Greške u dijagnostičkom nalazu

Statistički test		
Odluka	Realnost	
	Ho tačna	Ha tačna
	Lažno +	Korektno
	Korektno	Lažno -

Slika 14. Greške u statističkom odlučivanju

Primenom statističkog testa, na sličan način se može načiniti greška u statističkom odlučivanju:

- Odbacivanjem  $H_0$  i prihvatanjem  $H_a$  ( $p < \alpha$ ) kada je  $H_0$  stvarno tačna, načinjena je tzv. **Greška I vrste** (lažno pozitivan rezultat).
- Prihvatanjem  $H_0$  i odbacivanje  $H_a$  ( $p \geq \alpha$ ) kada je  $H_a$  stvarno tačna, načinjena je tzv. **Greška II vrste** (lažno negativan rezultat) (Slika 14.).

<sup>33</sup> Mamografija je radiološko snimanje dojke i predstavlja neinvazivnu dijagnostičku metodu.

Greška I vrste ukazuje na lažno pozitivan rezultat (proglašava se terapija A statistički značajno efikasnijom od B iako ona to realno nije) a njena verovatnoća je upravo **broj  $\alpha$** . Drugačije rečeno, vrednost  $\alpha$  (*crveni rep*; Slika 11. i 12.) predstavlja region neočekivanih vrednosti sa stanovišta nulte hipoteze i jednaka je verovatnoći pogrešnog odbacivanja nulte hipoteze.

Greška II vrste ukazuje na lažno negativan rezultat (zaključuje se da nema statistički značajne razlike u efikasnosti između terapija A i B iako to realno nije tačno) a njena verovatnoća se označava **brojem  $\beta$** . Drugačije rečeno, vrednost  $\beta$  je jednaka verovatnoći pogrešnog odbacivanja alternativne hipoteze.

Svaki istraživač bi želeo da su istovremeno verovatnoće obe greške nula tj. i  $\alpha=0$  i  $\beta=0$ . Međutim, verovatnoće  $\alpha$  i  $\beta$  su međusobno zavisne (što je  $\alpha$  manje, to je  $\beta$  veće i obratno) i matematički je nemoguće da obe istovremeno budu jednake nuli. Ali se zato mogu kontrolisati.

Vrednost  $1-\beta$  definiše se kao **Moć (snaga) testa** (eng. *Power*) jer ukazuje na sposobnost (verovatnoću) statističke metode da otkrije razliku kada ona stvarno postoji.

Takođe treba naglasiti da su veličine  $\alpha$ ,  $\beta$ , snaga testa i obim uzorka međusobno povezani i da se u fazi planiranja istraživanja mogu kontrolisati, u zavisnosti od tipa istraživanja, postavke primarnog cilja i načina njegove verifikacije.

#### **2.2.4. Interval poverenja u biomedicini [15,16]**

Još jedan statistički pojam koji se u biomedicini retko pravilno usvaja. Tada treba objasniti da koncept odlučivanja zasnovan na p-vrednosti ima svojih manjkavosti:

- vodi u greške jer dozvoljava mogućnost donošenja pogrešnih odluka (grešake I i II vrste)
  - podložan je uticaju slučaja jer se nikada sa sigurnošću ne zna da li je određeni ishod eksperimenta, a samim i tim p-vrednost, posledica stvarnog stanja ili samo slučaja
  - nije informativan, jer osim klasifikovanja studija na pozitivne/negativne<sup>34</sup>, p-vrednost ne daje nikakve dalje informacije o pitanjima koja su od primarnog interesa za istraživače.

Više informacija o istraživačkoj hipotezi dobija se na osnovu **intervala poverenja**. Pojam intervala poverenja i njegovo intuitivno razumevanje je objašnjeno na sledećem hipotetičkom primeru istraživanja.

**Primer 1.** Neka je cilj jednog kliničkog istraživanja poređenje efekata terapije A i terapije B, pri čemu se efekat meri učestalošću pozitivnog terapijskog odgovora.

Radi lakše ilustracije, neka je u svakoj od uzoračkih grupa (A vs. B) bilo po 10 ispitanika.

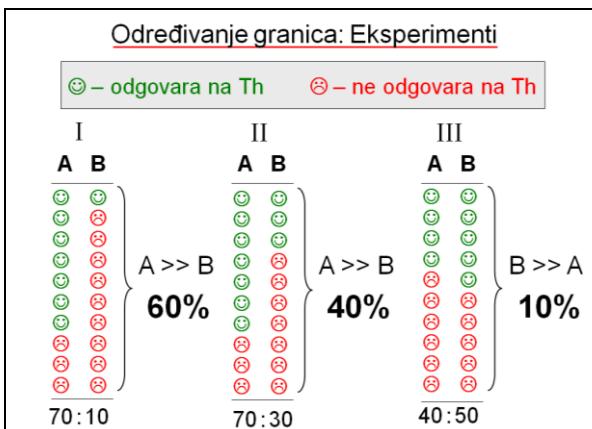
Isto istraživanje je pod istim uslovima ponovljeno 3 puta i zabeleženi su rezultati (slika 15).

Pri tome je

- pozitivan terapijski odgovor obeležen sa ☺
  - negativan terapijski odgovor obeležen sa ☹

Slika 15. Rezultati tri eksperimentalne

<sup>34</sup> U smislu da je studija bila u stanju da potvrди / ne potvrdi istraživačku (alternativnu) hipotezu.



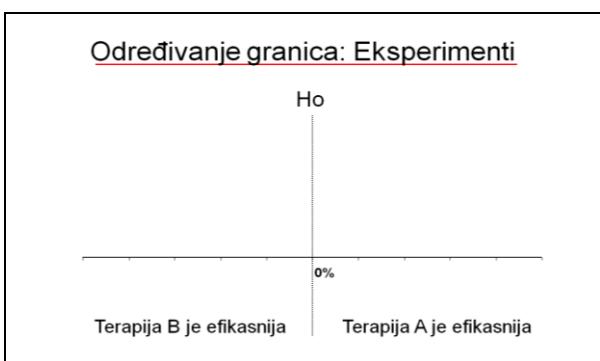
Slika 16. Kvantifikovani rezultati tri eksperimenta

Kvantifikovanjem dobijenih rezultata, vidi se sledeće (Slika 16.):

I: odgovor u grupi A je bolji nego u B (70:10 %)  
jer je razlika u efektu iznosila 60% u korist A

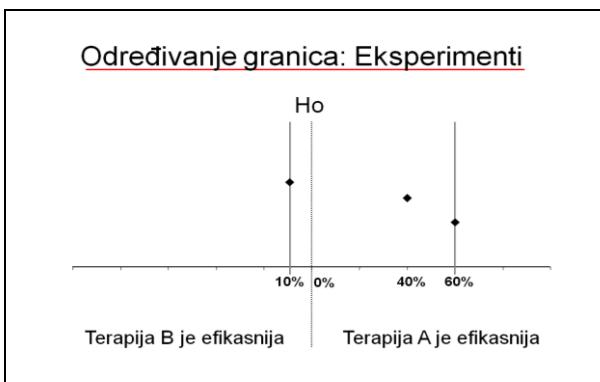
II: odgovor u grupi A je bolji nego u B (70:30 %)  
jer je razlika u efektu iznosila 40% u korist A

III: odgovor u grupi B je bolji nego u A (50:40 %)  
jer je razlika u efektu iznosila 10% u korist B



Slika 17. Zone efikasnosti terapija A i B

Da bi se grafički prikazali dobijeni rezultati, treba primetiti da nulta hipoteza ( $H_0$ : nema razlike u efektima terapije A i terapije B) deli koordinatni sistem tj. *prostor efikasnosti* terapija A i B (Slika 17.) na zonu gde je efikasnija terapija A (desno od 0) i zonu gde je efikasnija terapija B (levo od 0).

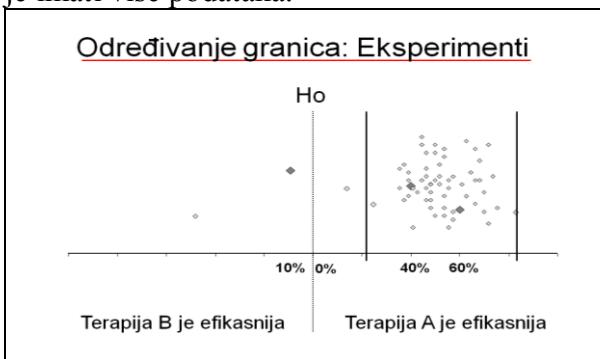


Slika 18. Grafički prikaz dobijenih rezultata

Grafičkim prikazom dobijenih rezultata:

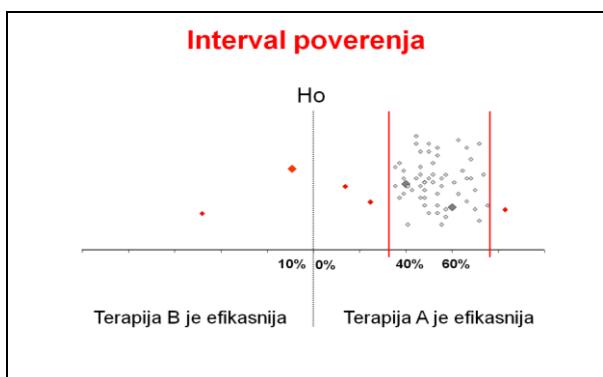
- I: 60% u korist terapije A
  - II: 40% u korist terapije A
  - III: 10% u korist terapije B

može se zaključiti da se stvarna razlika u efikasnosti između terapije A i B nalazi u granicama od 10% u korist terapije B pa do 60% u korist terapije A, što je prilično neprecizno (Slika 18.).



Slika 19. Grafički prikaz svih rezultata

Prepostavimo da je isto istraživanje ponovljeno 100 puta i da je svaki od dobijenih rezultata grafički prikazan. Sada je moguće načiniti tačniju procenu. Na osnovu dobijenih rezultata, interval u kome se sa velikom verovatnoćom nalazi stvarna razlika u efektu između terapija A i B iznosi od 20-80% u korist terapije A  
(Slika 19.)



Slika 20. Interval poverenja

Ali ko u današnjim uslovima ima dovoljno sredstava, saradnika, etičkih odobrenja, vremena, agenasa da ponovi isto istraživanje 100 puta?

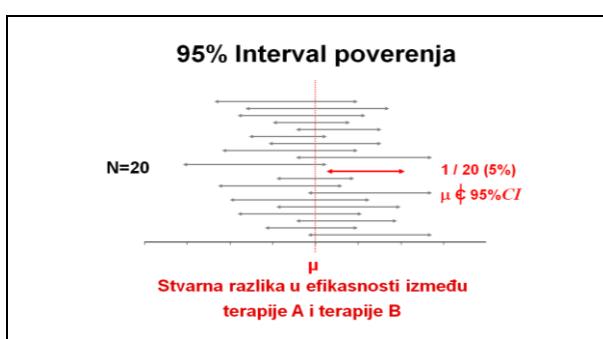
Pomoću statističkih metoda moguće je na osnovu rezultata samo jednog istraživanja proceniti tražene granice (Slika 20).

Te granice određuju tzv. Interval poverenja. ■

**Interval poverenja** (eng. *CI - Confidence interval*), intuitivno rečeno, jeste opseg u kome se sa velikom verovatnoćom nalazi stvarna vrednost faktora od interesa (razlika u efikasnosti). Njegove granice se određuju statističkim metodama u zavisnosti od prirode parametra koji se procenjuje.

Interval poverenja karakterišu:

- preciznost (raspon između granica intervala)
- pouzdanost (izražena kroz njegovu procentualnu vrednost)



Slika 21. 95% Interval poverenja (95% CI)

U biomedicinskim radovima najčešći je 95% interval poverenja (95%CI) čije je formalno značenje sledeće:

**Stvarna vrednost faktora od interesa** (razlika u efikasnosti) našla bi se slučajno van granica intervala poverenja u svega 5% od ukupnog broja ponavljanja istog istraživanja (Slika 21.).

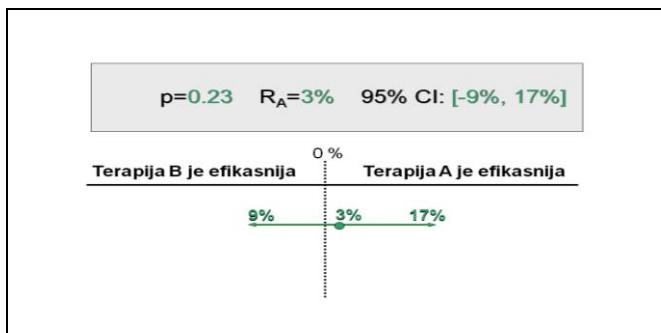
Dakle, 95% interval poverenja neće sadržati stvarnu razliku u efikasnosti samo u 5% ponavljanja istog eksperimenta. Njegova pouzdanost se može povećati ali po cenu smanjenja preciznosti (99% CI će imati veći i neprecizniji opseg od 95%CI). Uz to, treba naglasiti da su veoma male šanse da interval poverenja, dobijen na osnovu rezultata nad samo jednim reprezentativnim uzorkom, neće sadržati stvarnu razliku u efektu [26].

Interval poverenja ima značajnu funkciju u tumačenju dobijenih rezultata. Pored informacije o opsegu (intervalu) unutar koga se najverovatnije nalazi stvarna vrednost posmatranog faktora, preciziranjem granice praktične značajnosti (kliničke, biološke), interval poverenja je koristan i prilikom interpretacije i diskusije dobijenih statističkih rezultata, što je ilustrovano sledećim hipotetičkim primerom istraživanja.

**Primer 2.** Sprovedeno je jedno prospektivno kliničko istraživanje sa ciljem da se ispita razlika u efikasnosti između eksperimentalne terapije A (ThA) i standardne terapije B (ThB). Efekat terapije se meri učestalošću pacijenata sa pozitivnim terapijskim odgovorom. Istraživači su zaključili da bi razlika u efikasnosti od 10% u korist terapije A bila dovoljna da eksperimentalnu terapiju A proglaše klinički značajno boljom. Time je granica kliničke značajnosti postavljena na 10% (u korist A). Granica statističke značajnosti je  $\alpha=0.05$ .

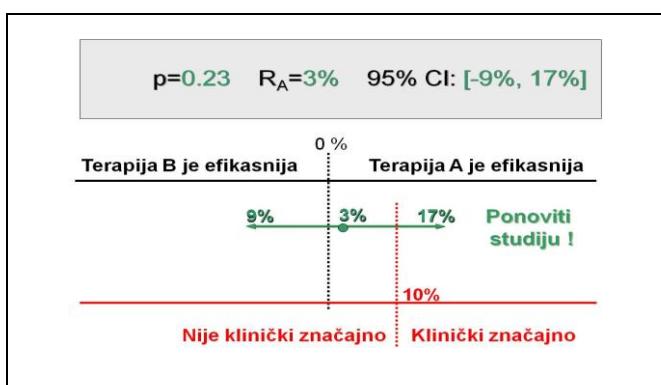
Opservirana razlika u efikasnosti iznosila je svega 3% u korist terapije A. Testiranjem nulte hipoteze ( $H_0$ : nema razlike u efikasnosti između terapije A i B), dobijeno je  $p=0.23$  ( $p>\alpha$ ) te nulta hipoteza nije odbačena, a istraživanje je proglašeno negativnim jer nije bilo u stanju da potvrdi efikasnost eksperimentalne terapije.

Određivanjem intervala poverenja za opserviranu razliku od 3% u korist Th A, dobijen je 95%CI: [-9%, 17%].



Slika 22. Grafički prikaz rezultata

Kao u primeru 1., da bi se grafički prikazali dobijeni rezultati (razlika u efikasnosti i njen odgovarajući 95%CI), treba primetiti da nulta hipoteza ( $H_0$ : nema razlike u efektima ThA i ThB) deli koordinatni sistem tj. prostor efikasnosti terapija A i B (Slika 22.) na zonu gde je efikasnija terapija A (desno od 0) i zonu gde je efikasnija terapija B (levo od 0).



Slika 23. 95% CI u službi tumačenja rezultata

Da bi se pravilno protumačio dobijeni rezultati, potrebno je odrediti i **zonu kliničke značajnosti** za Th A.

Zadata granica kliničke značajnosti od 10% u korist Th A, deli isti koordinatni sistem tj. prostor efikasnosti terapija A i B (Slika 23.) na oblasti:

- nije klinički značajno
- jeste klinički značajno.

Testiranjem nulte hipoteze, eksperimentalni podaci nisu bili u stanju da pruže dokaz o statistički značajno boljoj efikasnosti terapije A ( $p=0.23$ ) te je studija proglašena negativnom. Ali to nije i konačna odluka o postavljenoj istraživačkoj hipotezi. Naime, kako gornja granica 95% intervala poverenja iznosi 17% i veća je od granice kliničke značajnosti 10% (Slika 23.), to postoji šansa da je stvarna razlika u efikasnosti između ove dve terapije ipak veća od 10% u korist Th A. Zato definitivan sud o istraživačkoj hipotezi nije moguće doneti bez dodatnih, ponovljenih istraživanja. ■

Nematematičarima takođe treba pojasniti da su, iako naizgled različiti, p-vrednost i odgovarajući interval poverenja blisko povezani. Naime, p-vrednost će biti manja od 0.05 (signifikantna) samo kada 95% interval poverenja ne sadrži nulu (odnosno, preciznije, kada ne sadrži vrednost specificiranu nultom hipotezom). I obrnuto, ako 95% CI sadrži nulu (odnosno, preciznije, kada sadrži vrednost specificiranu nultom hipotezom), tada p-vrednost neće biti signifikantna. Slično, p-vrednost će biti manja od 0.01 (visoko signifikantna) samo kada 99% interval poverenja ne sadrži nulu (odnosno, preciznije, kada ne sadrži vrednost specificiranu nultom hipotezom). Osnov ove veze jeste zasnovanost obe metode (prorčuni p-vrednosti i 95% CI) na sličnim aspektima teorijske distribucije test-statistike [26].

Kako što je ilustrovano primerom 2., interval poverenja, uz postavljenu granicu kliničke značajnosti (u smislu zadate ili praktično značajne), može prilično da promeni interpretaciju i diskusiju dobijenih rezultata.

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Interval poverenja, i pored ograničenja u smislu preciznosti i pouzdanosti, pruža mnogo više informacija o faktoru od interesa od odgovarajuće p-vrednosti. Zato je poželjno, a sve češće i obavezno, u prikazu rezultata navoditi i p-vrednost i odgovarajući interval poverenja. Izostavljanjem jedne od njih, više informacija se dobija ukoliko je naveden interval poverenja jer se na osnovu njega izostavljena p-vrednost može bar grubo proceniti (jeste / nije signifikantna).

Ovim nije iscrpljena uloga intervala poverenja u kliničkim istraživanjima. Naime, mnogi klinički trajali kojima se ispituje bioekvivalencija, superiornost ili neinferiornost biomedicinskih tretmana (lekovi, protokoli lečenja, dijagnostičke procedure i sl.), zasnovani su na upotrebi intervala poverenja.

Dalje, interval poverenja se koristi prilikom tumačenja rezultata meta-analiza, multicentričnih trajala kao i rezultata analize po podgrupama od značaja.

I za kraj ovog poglavlja, treba napomenuti da je osnov mnogih kontroverzi u savremenoj biostatističkoj literaturi upravo pitanje upotrebe jednostranih ili dvostranih hipoteza u biomedicinskim istraživanjima. Obzirom da se ovaj izbor odražava na jednostranost odnosno dvostranost pripadajućih intervala poverenja, dok se ne postigne konsenzus po tom pitanju, promoviše se upotreba dvostranih intervala poverenja koji su generalno pogodniji za procenu faktora od značaja za istraživanje.

Odlučivanja na osnovu p-vrednosti i intervala poverenja, iako na prvi pogled različita, imaju isti koncept koji je poznat kao **Frekventistička škola mišljenja** u statistici. Ovoj klasičnoj školi mišljenja danas se sve više suprotstavlja tzv. **Bajesovska škola** koja je, po mišljenju mnogih nestatističara, razumljivija i usklađenija sa intuitivnim tokom rezonovanja.

### 3. STATISTIKA U FAZI PLANIRANJA ISTRAŽIVANJA

Svako kliničko ili biomedicinsko istraživanje ima jedan ili više osnovnih ciljeva. Osnovna premla za kvalitet i uspešnost svakog takvog istraživanja jeste prilagodenost njegovog dizajna postavljenim ciljevima. Iako kliničke i druge biomedicinske studije obično traže odgovore na jednostavna pitanja i obično imaju jednostavne ciljeve, to nikako ne znači da je i dizajn takvih studija jednostavan.

Sam izbor dizajna istraživanja se svakako može učiniti na više različitih načina - nekada je nametnut samim problemom istraživanja - ali ipak mnogo češće predstavlja rezultat slobodnog izbora istraživača. No biomedicinske istraživače tokom regularnog školovanja obično edukuju za samostalnu statističku analizu i veoma ih retko obučavaju za samostalno planiranje, dizajn i organizaciju kliničkog istraživanja. Zato nije neobično što postoji veliki broj studija koje se završavaju bez očekivanih odgovora na postavljena istraživačka pitanja.

**Ni jedan aspekt istraživanja nije toliko zanemaren kao izbor i postavka dizajna studije** [26]. To je veoma kompleksan proces u kome, osim bazične nauke (biomedicine), bitnu ulogu ima i statistika. Ove informacije su, na žalost, poznate tek manjem broju biomedicinskih istraživača. Većina još uvek mesto statistike u istraživanju prepoznaće tek u fazi analize podataka. A to je pogrešno jer loše postavljen cilj, neadekvatan obim uzorka ili nekvalitetni podaci imaju dalekosežne posledice – odražavaju se na ukupan kvalitet istraživanja.

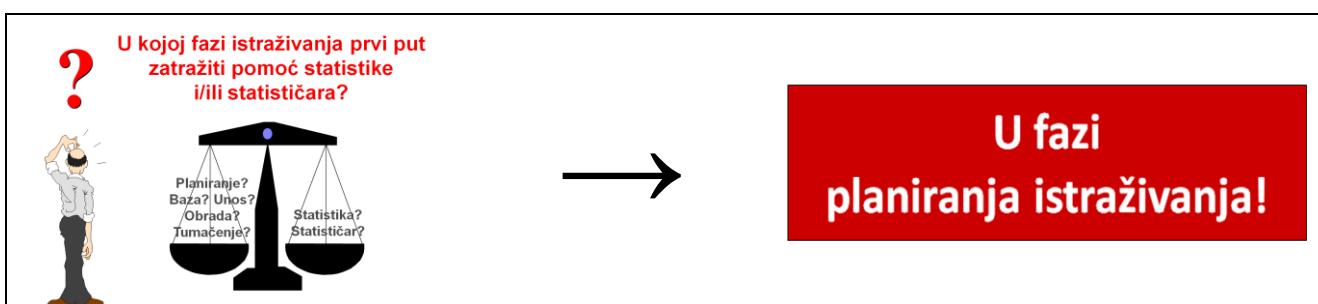


Slika 24. Povezanost faza istraživanja

Naime, izbor statističkih metoda direktno zavisi od cilja istraživanja i obima uzorka, a njihova valjana upotreba od obima uzorka i kvaliteta podataka. Od njih dalje zavise rezultati statističke analize koji se, izraženi kroz pouzdanost i valjanost odluka, eksplisitno odražavaju na ukupan kvalitet istraživanja [15,16].

Upravo na ovoj uslovjenosti (Slika 24.) se zasniva višestruka uloga statistike u biomedicinskim istraživanjima.

Uloga statistike u fazi planiranja istraživanja se odnosi na razne aspekte dizajna studije<sup>35</sup>. Zato tokom edukacije biomedicinskih stručnjaka iz oblasti statistike, treba naglasiti da mesto statistike u biomedicinskom istraživanju počinje od – faze njegovog planiranja (slika 25.).



Slika 25. Mesto statistike u istraživanju – već u fazi planiranja

<sup>35</sup> Poput formulisanja ciljeva istraživanja (postavka hipoteza), karakteristika studije (opservaciona/eksperimentalna; longitudinalna/studija preseka; retrospektivna/prospektivna), izbor kontrolne grupe (kod komparativnih istraživanja), kontrolu poznatih i nepoznatih izvora varijabiliteta, kontrolu pristrasnosti, izbor i broj subjekata nad kojima će se vršiti ispitivanje, svi aspekti prikupljanja podataka, izbor i frekvencija merenja koja će se vršiti, itd.

Dalje izlaganje o statistici u fazi planiranja istraživanja jeste segmentno podeljeno, ali treba razumeti da su sve akcije koje se sprovode u ovoj fazi međusobno povezane. Postavljeni ciljevi, izabrani tip istraživanja, ciljna populacija, metode izbora uzorka, varijable za verifikacije ciljeva, mehanizmi kontrole varijabiliteta i pristrasnosti i sl., sve je podložno promeni u smislu redefinisanja, usaglašavanja, ponovnog izbora - ukoliko se proceni da predloženi dizajn sobom nosi suviše rizika, neizvesnosti, varijabiliteta.

Uostalom, uvek je bolje odustati od istraživanja nego ga još u fazi planiranja osuditi na neuspeh.

### **3.1. Ciljevi istraživanja. Izbor tipa istraživanja. Ciljna populacija. Uzorak.**

Jedan od prvih zadataka u fazi planiranja istraživanja jeste jasno definisanje cilja (ili ciljeva) istraživanja, izbor tipa studije i precizno definisanje varijabli kojima će se ciljevi verifikovati. Nakon toga sledi izbor ciljne populacije, izbor uzorka i plan realizacije<sup>36</sup>. Kod kliničkih trajala, sve navedeno mora biti sadržano u tzv. *Protokolu istraživanja*, dokumentu koji mora biti sačinjen pre početka realizacije trajala.

#### **3.1.1. Formulisanje ciljeva istraživanja**

U metodologiji naučnoistraživačkog rada [18], naučni problem se definiše kao pitanje bez odgovora u okviru postojećeg naučnog znanja<sup>37</sup>.

Svako naučno istraživanje započinje izborom naučnog problema - njegovim uočavanjem, postavljanjem i formulisanjem. Taj izbor nije jednostavan, tim pre što su istoriji nauke poznata uporna, dugotrajna i uzaludna nastojanja da se reše pseudoproblemi ili neispravno postavljeni problemi. Stoga je neophodno strogo ocenjivanje naučnog problema u smislu njegovog značaja za razvoj naučnog znanja, količinom neizvesnosti koju sadrži i praktičnim značajem.

Predmet istraživanja čine pitanja usmerena ka saznavanju uzroka, mehanizma ispoljavanja i odnosa u jednom naučnom problemu ili još nerešenim delovima problema. Iskazuje se kroz cilj istraživanja kao osnovna misaona pretpostavka (tzv. naučna hipoteza) o predmetu istraživanja koja je jasno i nedvosmisleno formulisana, precizno određena i naučno opravdana (navođenjem naučne zasnovanosti očekivanih odgovora).

Cilj istraživanja je osnovni i najvažniji element naučnog metoda uopšte. To je ideja vodilja koja usmerava istraživače na ispitivanje i otkrivanje stvarne veze između poznatih i nepoznatih činjenica, ali i diktira metodologiju istraživanja (izbor tipa istraživanja, obeležja posmatranja, tehnika prikupljanja podataka i njihove analizu, itd.).

Istraživačka hipoteza se oblikuje iz naučne hipoteze i predstavlja elementarnu, jednoznačnu i eksplicitnu tvrdnju o nekom obeležju populacije (varijabli), sa osnovnom svrhom da bude testirana, proverena.

U daljem tekstu se uglavnom govori o ciljevima kliničkih istraživanja, pri čemu neće doći do zabune ako se pod ciljevima istraživanja ustvari podrazumevaju istraživačke hipoteze.

Izbor cilja kliničkog istraživanja nije jednostavan zadatak. Zbog jasne razdvojenosti faza kliničkih trajala, izbor njihovih ciljeva je donekle preciziran. Slično je kod kliničkih trajala superiornosti, ekvivalencije ili neinferiornosti. Međutim, i pored toga, izbor njihovih ciljeva je i

<sup>36</sup>Preciznost procedura i merenja; dinamika merenja; forme prikupljanja podataka, kontrola i evidencija; trajanje istraživanja; plan statističke analize koja obuhvata transformacije podataka, deskriptivne i analitičke metode – osnovne i potencijalne; način interpretacije / prezentacije rezultata i sl.

<sup>37</sup>U smislu nerešenog, nedovoljno rešenog ili spornog pitanja; kontroverze po pitanju važnosti i značaja nečega; sumnje u postojeće objašnjenje pojave, procesa i sl.

dalje kompleksan proces jer on zvisi i od oblasti biomedicine u kojoj se istraživanje sprovodi. Tako se u onkologiji procene efikasnosti tretmana (leka, procedure, intervencije) mogu vršiti pomoću:

- klasičnih mera koje pružaju direktni dokaz o povlačenju ili smanjenju tumora<sup>38</sup>, smanjenju simptomatologije vezane za oboljenje, poboljšanju kvaliteta života onkoloških bolesnika i sl.
- surogatnih mera (eng. *Surrogate end points*) poput:
  - preživljavanja bez znakova bolesti (eng. *DFS - Disease free survival*)
  - vremena do progresije (eng. *TTP – Time to progression*)
  - preživljavanja do progresije bolesti (eng. *PFS – Progression free survival*)
  - vremena do neuspeha terapije (eng. *TTF – Time to treatment failure*)

te izbor cilja onkološkog trajala nastaje kao rezultat pažljive, sistematične i precizne procene mnogih faktora.

Ipak, bez obzira na oblast biomedicine i karakteristike kliničkog istraživanja, svako od njih mora imati jasno razdvojene primarne i sekundarne ciljeve, a njihova formulacija mora biti jasna, precizna i nedvosmislena.

**Primer 3.** U stomatologiji se planira prospektivno, komparativno istraživanje sa ciljem ispitivanja efikasnosti tri različita pristupa u pulpalnoj anesteziji: I anestetik (A1) - mepivakain bez vazokonstriktora; II anestetik (A2) - lidokain sa adrenalinom (1 : 80 000); III anestetik (A3) - artikain sa adrenalinom (1 : 100 000). Ciljna populacija su osobe sa zubima za ekstrakciju. Anestetici bi se davali 1 čas pre oralne operacije.



Slika 26. Postavka primarnog cilja

Analizom relevantnih informacija o merama efikasnosti sličnih istraživanja, zaključeno je da su učestalost i intenzitet prvog bola<sup>39</sup>, vreme do njege pojave kao i vreme od operacije do pojave prvog bola pogodni parametri za procenu efikasnosti (Slika 26.).

Tako je preciziran primarni cilj: *ispitati efikasnost anestetika A1, A2 i A3 kroz prisustvo, pojavu i intenzitet prvog bola, vreme do pojave prvog bola, itd.*



Slika 27. Postavka sekundarnog cilja

Daljom analizom, zaključeno je da su informacije o smanjenju otoka, rastojanju od vrha brade do tragusa, mogućnost otvaranja usta, pojava komplikacija (infekcije, alveolit) takođe od značaja za istraživanje (Slika 27.).

Preciziran je sekundarni cilj: *ispitati efikasnost analgetika A1, A2 i A3 kroz smanjenje otoka, količinu krvi, pojavu komplikacija, itd.*

Iako mnogo jasniji, ovako definisani ciljevi još uvek nisu dovoljno jasni jer nisu precizno definisane varijable za njihovu verifikaciju<sup>40</sup>. ■

<sup>38</sup>Tzv. objektivni tumorski odgovor (eng. *ORR - Objective response rate*).

<sup>39</sup>Misli se na prvi bol neposredno nakon operacije ili prvi bol po odlasku iz ordinacije.

<sup>40</sup>Na primer da li će se jačina bola meriti trostopenom skalom (bez bola/umeren/jak) ili petostopenom skalom (bez bola/blag/umeren/jak/vrlo jak); da li smanjenje otoka treba meriti samo pre i dva dana posle intervencije (u % ili mm) ili češće, itd.

### 3.1.2. Izbor tipa istraživanja

Osnova planiranja svake studije (kliničke ili druge) jeste izbor tipa istraživanja koji će biti prilagođen postavljenim ciljevima jer od izabranog tipa istraživanja zavisi kasniji izbor ciljne populacije i uzorka.

Dakle, u fazi planiranja treba pažljivo izabrati onaj tip istraživanja koji je najbolje prilagođen izabranim ciljevima, dobro se informisati o svim specifičnostima dizajna izabranog tipa studije i pažljivo proceniti sve potencijalne teškoće u njegovom planiranju i realizaciji. Ukoliko se otkrije veliki broj neizvesnosti, rizika, varijabiliteta ili pristrasnosti koje nosi izabrani tip studije, racionalnije je preformulisati istraživačke ciljeve i izabrati drugačiji tip studije čiji dizajn nosi manje rizika po uspešnost ukupnog istraživanja i validnost njegovih rezultata.

### 3.1.3. Izbor populacije. Entitet istraživanja

Za svako kliničko istraživanje, pogotovu kliničke trajale, vrlo brižljivo se vrši izbor populacije iz koje će se kasnije regrutovati uzorak. Osnovno pravilo jeste da to bude populacija subjekata (bolelih) za koje se smatra da će imati najviše koristi od tog istraživanja.

Recimo, pri planiranju kliničkog trajala čiji je cilj ispitivanje efekta novog leka, pre izbora populacije uzimaju se u razmatranje sve pretrajalske informacije ili rezultati kliničkih trajala ranijih faza. Potom se razmatra populacija pacijenata koja će imati najveći benefit i najmanji rizik od primene novog leka (napr. pacijenti sa blažim oblicima bolesti, dobrog opštег stanja, bez pridruženih srčanih ili drugih oboljenja, unutar određenih starosnih granica i sl.).

Koliko god izgledalo jednostavno, izbor entiteta (jedinica) istraživanja nekada nije tako očigledan i jednostavan. Bez obzira na poteškoće, entitet istraživanja neophodno je jasno i precizno definisati.

**Primer 4.** Planirano je jedno kliničko istraživanje u stomatologiji sa primarnim ciljem ispitivanja uspešnosti imedijalnog opterećenja implantata u odnosu na standardno opterećenje. Ciljnu populaciju bi činili bolesnici sa bilateralnom parcijalnom bezubošću gornje vilice (Slika 28.). Uzoračku grupu bi činilo 10 pacijenata sa bilateralnom parcijalnom bezubošću gornje vilice kojima bi po 2 implanta bila ugrađena i levo (imedijalno opterećeni) i desno (standardno opterećeni).

Implanti u stomatologiji	
Ideja za prospektivnu studiju:	
<b>Uzorak:</b>	10 pacijenata sa bilateralnom parcijalnom bezubošću gornje vilice kojima će se ugraditi po 2 implanta sa obe strane gornje vilice
<b>Exp. grupa:</b> Implanti levo (imedijalno opterećeni)	<b>Kon. grupa:</b> Implanti desno (opterećeni nakon 21 dana) (standardni period zarastanja)
<b>U studiji će biti analizirano 40 implantata.</b>	

Slika 28. Implanti u stomatologiji

Istraživanje je ovim definisano kao komparativno, prospektivno, dizajna *podeljeni segment* (pacijent je sam sebi kontrola pri čemu je jedna njegova strana *eksperimentalna* a druga *kontrolna*). Analiziraće se 40 implantata.

Međutim, sa stanovišta buduće statističke analize, prikaza podataka i interpretacije rezultata, s pravom se postavlja pitanje šta je entitet (jedinka) ovog istraživanja: pacijent ili implant? (Slika 28.)

Ovaj specifičan *podeljeni segment* dizajn (eng. *Split-Plot*) se često koristi u stomatologiji i dermatologiji, osmišljen tako da ista osoba bude sama sebi kontrola. Na taj način se varijabilitet mnogih faktora drastično smanjuje u poređenju sa varijabilitetom koji bi postojao u slučaju klasičnog komparativnog dizajna - gde ispitivane grupe čine različiti subjekti.

Tako je, bez obzira na zabunu koju unose specifičnosti dizajna podeljenog segmenta, osnovni entitet ovog istraživanja - čovek (pacijent).■

### 3.1.4. Uzorak. Uzoračke grupe

Izbor uzorka je veoma važan i delikatan zadatak jer na osnovu njega, tokom realizacije istraživanja, treba dobiti informacije koje će omogućiti donošenje zaključaka o celoj populaciji iz koje uzorak potiče. Zato je važno da uzorak bude adekvatan u smislu njegove nepristrasnosti (svaki član izabrane populacije ima jednaku šansu da bude izabran u uzorak), reprezentativnosti (entiteti uzorka treba da imaju sve karakteristike osnovnog skupa tj. da dobro reprezentuju populaciju iz koje potiču) i optimalnog obima (više reči o tome u poglavlju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole*).

Proces izbora uzorka iz populacije se naziva uzorkovanje.

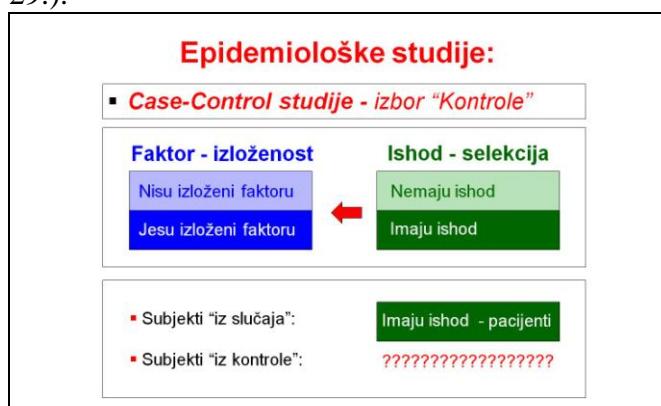
Različiti uzorci, izabrani iz iste populacije, obično imaju različite karakteristike. Drugaćije rečeno, uzorkovanje uvek prate izvesne greške koje se direktno odražavaju na prisustvo razlika u distribuciji faktora od značaja u uzorku i populaciji iz koje uzorak potiče<sup>41</sup>. Kod uzorka malog obima ovakve razlike su i veće.

Zato se u fazi planiranja polaže puno pažnje u način izbora uzorka. O tehnikama njihovog izbora kao i proračunu obima uzorka više se govori u poglavlju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole*.

Izbor tehnike uzorkovanja i obim uzorka nisu jedini problemi uzorka. Naime, u deskriptivnim studijama<sup>42</sup>, obično je dovoljno postojanje samo jedne uzoračke grupe čije se osobine i promene stanja posmatraju, prate i analiziraju. Međutim, većina istraživanja (sva eksperimentalna i veliki broj opservacionih), pored osnovne grupe, zahteva postojanje i kontrolne grupe koja će služiti za poređenje. To su komparativna istraživanja, u kojima kontrolna grupa obezbeđuje verodostojnost budućih zaključaka.

U eksperimentalnim istraživanjima, izbor subjekata kontrolne grupe je obično prirodno vođen. To nije slučaj sa opservacionim studijama u kojima kontrolna grupa nije tako očigledna.

**Primer 5.** Za jedno istraživanje definisan je cilj: *Ispitati povezanosti konzumiranja cigareta (pušenja) i infarkta miokarda*. Izabran je tip istraživanja - Studija parova (retrospektivna, opservaciona). Za grupu *slučaja* izabrani su pacijenti koji su imali infarkt (ishod od značaja) i koji su pušači (izloženi faktoru od značaja). Postavlja se pitanje kako izabrati subjekte *kontrole* (Slika 29.).



Čak i ako se predloži da potencijalni subjekti budu pušači (izloženi faktoru od značaja) bez infarkta (ishod od značaja), ostaje dilema da li oni treba da budu pacijenti ili zdrave osobe?

Pretpostavimo da je odlučeno da subjekti kontrolne grupe budu pacijenti, pušači ali bez infarkta miokarda.

Slika 29. Izbor subjekata *kontrole*

Tada, pošto su pacijenti, oni moraju da imaju neko drugo oboljenje zbog koga se leče ili su hospitalizovani (sa astmom ili osteoporozom ili moždanim infarktom i sl.). Koje god oboljenje da se izabere, takvi subjekti kontrolne grupe mogu imati potpuno drugačije osobine od subjekata iz grupe

<sup>41</sup>Na primer, kod hospitalizovanih osoba sa hipertenzijom, prosečne vrednosti sistolnog/dijastolnog krvnog pritiska su očekivano i značajno više od prosečnih vrednosti sistolnog/dijastolnog krvnog pritiska populacije osoba sa hipertenzijom. To, uostalom, često i jeste razlog njihove hospitalizacije.

<sup>42</sup>Prikaz slučaja, Serije slučajeva, Ekološke studije i sl.

*slučaja.* Ovakvim izborom *kontrole* dopušta se potcenjivanje povezanosti faktora i ishoda (pušenja i infarkta) usled mnogih drugih faktora, takođe povezanih sa pušenjem.

Korekcijom prethodne odluke, za subjekte *kontrole* se biraju zdrave osobe, pušači, bez infarkta miokarda. No tada se mogu očekivati drugi problem poput:

- nereprezentativnost kontrole – zdrave osobe, pušači, bez infarkta miokarda su obično mlađe osobe te je izbor pogodnih subjekata otežan dodatnim uslovima (usaglšavanje izbora po određenoj starosti, polu i sl.)
- očekuje se slabiji stepen saradnje zdravih osoba jer nemaju mnogo motiva i interesa za učešće u takvoj studiji
- predstavljaju izvor pristrasnosti, pre svega za istraživače

Jasno je da bi slični problemi nastali ukoliko bi subjekti kontrole bile osobe sa infarktom miokarda (imaju ishod od značaja) koji su nepušači (nisu izloženi faktoru od značaja).

Zbog svega navedenog, nije retkost da u opservacionim studijama postoji *dupla kontrola* koju čine i pacijenti i zdrave osobe:

- svakom subjektu *slučaja* individualno se dodeljuje subjekat *kontrole*
- podrazumeva zahtevnu potragu za subjektima *kontrole* iste starosti, pola, zanimanja itd.
- *podešavaju* se samo karakteristike subjekata koje su jako povezane i sa pušenjem i sa infarktom miokarda (faktorom i ishodom od značaja za istraživanje)

Važno je razumeti da varijable po kojima se vrši podešavanje (eng. Match Variables) ne mogu biti ispitivane kao faktori rizika za ishod od značaja za istraživanje. ■

Primer 5. je naveden u cilju ilustracije kompleksnosti izbora kontrolne grupe u Studiji parova. Generalno, svaki tip istraživanja ima svojih specifičnosti i često je veoma teško pronaći dobru analogiju za izbor kontrolnih grupa, čak i između dva istraživanja istog tipa<sup>43</sup>.

Još jedan u nizu problema vezanih za svojstva uzorka, jeste razlikovanje **zavisnih uzoraka** (eng. *Paired samples*) od **nezavisnih uzoraka** (eng. *Independent samples; Unpaired samples*)

Značenje termina *nezavisnih i zavisnih uzoraka* u biomedicini je dvojako. Može se odnositi na:

- **grupe uzoračkih entiteta** (kontrolna vs. eksperimentalna grupa subjekata)
- **grupe uzoračkih podataka** (vrednosti ispitivanih varijabli koje se dobijaju jednom ili višestrukim opservacijama, merenjem, registrovanjem nad subjektima poput pola, vrednosti hemoglobina pre početka vs. na kraju terapije kod istih subjekata).

**Nezavisni uzorci (u smislu grupa uzoračkih entiteta)** su oni koji potiču iz iste populacije ali entiteti (subjekti) jedne grupe ne zavise ni na koji način od entiteta (subjekata) druge grupe. Drugačije rečeno, izbor entiteta jedne grupe je nezavisan od izbora entiteta druge grupe.

**Zavisni uzorci (u smislu grupa uzoračkih entiteta)** su oni čiji su entiteti (subjekti) grupa na neki od načina povezani (grupe roditelja i njihove dece; *unakrsne studije* u kojima su subjekti sami sebi kontrola). Drugačije rečeno, izbor entiteta jedne grupe jeste povezan sa izborom entiteta druge grupe. O ovim uzorcima se govori i kao o *uparenim uzorcima* i kod njih uzoračke vrednosti faktora od interesa obično više variraju između neuparenih subjekata nego između subjekata koji su u paru.

Sa druge strane, planom istraživanja se često predviđa da se neki faktor meri jednom ili više puta nad entitetima istraživanja. U zavisnosti od toga koliko se puta mere, opserviraju, registriraju vrednosti istog faktora, grupe uzoračkih podataka se dele na zavisne i nezavisne.

**Zavisni uzorci (u smislu grupa uzoračkih podataka)** su vrednosti faktora koje potiču od dva ili više merenja, opservacija nad istim entitetima. Višestrukim merenjem vrednosti istog faktora se obezbeđuje da svaki entitet bude sam sebi kontrola (pri ispitivanju novih insulinskih preparata kod

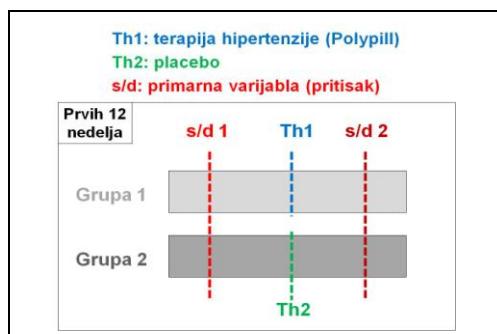
<sup>43</sup>Na primer, sledeća tri istraživanja su veoma specifična: *Povezanost pušenja i infarkta miokarda* (kardiologija); *Povezanost anemije sa prevremenim porođajem* (ginekologija); *Povezanost infekcije rubeolom sa pojavom katarakte kod dece* (pedijatrijska oftamologija). A sva tri istraživanja su Studije parova.

dijabetičara, nivo šećera u krvi na početku studije /inicijalna glikemija/ poredi se sa nivoom šećera u krvi nakon primene preparata. Istraživanje ne bi imalo smisla ako se takva merenja ne bi vršila nad istim osobama). Ovo nije uvek pravilo – o izuzecima obaveštava istraživač biomedicine<sup>44</sup>.

**Nezavisni uzorci (u smislu grupa uzoračkih podataka)** su vrednosti faktora koji potiču od jednog merenja, opservacije nad entitetima. U kliničkim istraživanjima to su obično razni demografski podaci (pol, starost, zaposlenje, nivo obrazovanja, mesto prebivališta i sl.), podaci o oboljenju (lična i porodična anamneza, kliničke karakteristike oboljenja ili pridruženih oboljenja; podaci o primarnoj dijagnostici i sl.) i drugi. Ni ovo nije uvek pravilo – o izuzecima obaveštava istraživač biomedicine<sup>49</sup>.

Iako nekada deluje komplikovano, uz pažljiv pristup mogu se jasno razlikovati odnosi zavisno/nezavisno u kontekstu prethodno navedenog.

**Primer 6.** Treba sprovesti prospективno, komparativno kliničko istraživanje sa ciljem ispitivanja efekata preparata za prevenciju kardiovaskularnih bolesti *Polypill-a* (Th1), placebo kontrolisanog (Th2). Očekuje se stabilizacija pritiska i sniženje holesterola. Ciljna populacija su osobe sa hipertenzijom, bez srčanih oboljenja, starosti preko 50 godina. Iz nje će se regrutovati dve uzoračke grupe: grupa 1 (Gr1) i grupa 2 (Gr2). Variable za procenu efekta su sistolni i dijastolni pritisak (s/d) kao i vrednosti holesterola. Predložen je unakrsni (eng. *cross-over*) dizajn istraživanja: Gr1 će primati Th1 a Gr2 će primati Th2 tokom 12 nedelja, po jednu tabletu uveče (I faza; oznaka: faza1). Nakon toga će Gr1 će primati Th2 a Gr2 primati Th1 tokom sledećih 12 nedelja, po jednu tabletu uveče (II faza; oznaka: faza2). Pritisak (s/d) i holesterol biće mereni 3 puta, pre i posle svake terapije (nakon 12 nedelja). Ilustracija faza predloženog dizajna je prikazana na slikama 30. i 31.



Slika 30. Prva faza studije

Treba primetiti sledeće: (Slika 30. i 31.)

Gr1 i Gr2 u obe faze (fazi1/2) su nezavisni uzorci

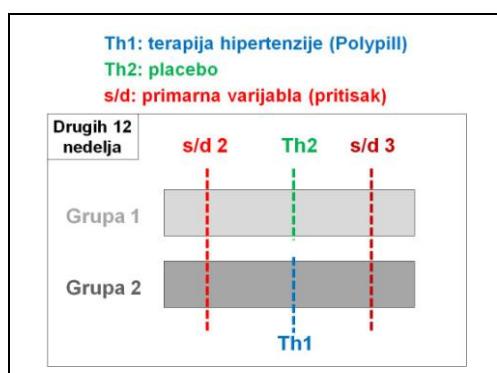
Gr1 u fazi 1 i Gr1 u fazi 2 su zavisni uzorci (Th1 vs. Th2)

Gr2 u fazi 1 i Gr2 u fazi 2 su zavisni uzorci (Th2 vs. Th1)

Vrednosti s/d1 u Gr1 i u Gr2 u fazi1 su nezavisni uzorci

Vrednosti s/d2 u Gr1 i u Gr2 u fazi1/2 su nezavisni uzorci

Vrednosti s/d3 u Gr1 i u Gr2 u fazi2 su nezavisni uzorci



Slika 31. Druga faza studije

Vrednosti s/d1, s/d2, s/d3 u Gr1 u fazi 1/2 su zavisni uzorci  
Vrednosti s/d1, s/d2, s/d3 u Gr2 u fazi 1/2 su zavisni uzorci

Variable Th1 i Th2 su nezavisne

U fazi1 varijabla s/d u Gr1 zavisi od Th1 (s/d2 prema s/d1)

U fazi1 varijabla s/d u Gr2 zavisi od Th2 (s/d2 prema s/d1)

U fazi2 varijabla s/d u Gr1 zavisi od Th2 (s/d3 prema s/d2)

U fazi2 varijabla s/d u Gr2 zavisi od Th1 (s/d3 prema s/d2)

Itd. ■

Razlikovanje zavisnih od nezavisnih grupa uzoračkih entiteta, podataka i varijabli, od primarnog je značaja za pravilan izbor testova ili drugih statističkih metoda, za prikaz podataka i kasnije tumačenje rezultata.

<sup>44</sup> Recimo, u onkologiji, kod iste osobe, primarni i sekundarni malignitet su nekada potpuno nezavisna oboljenja a nekada ne. Slično, kod uparenih entiteta (roditelji-deca) neke vrednosti faktora dobijene samo jednim merenjem su zavisni podaci a nekada ne.

Što se tiče izbora uzorka, to je procedura koja obuhvata sledeće akcije:

1. definisanje ciljne populacije
2. određivanje okvira uzorka (kriterijumi za uključivanje)
3. izbor tehnika uzorkovanja (izbor plana uzorka)
4. određivanje veličine uzorka
5. izbor elemenata uzorka
6. validacija uzorka (priklapanje podataka)

O uzorku će u poglavlju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole.* još biti reči.

## 3.2. Izbor varijabli za verifikaciju ciljeva

Pažljiv izbor varijabli različite namene, veoma je važan za svako istraživanje. Njihovim pogrešnim ili nepreciznim izborom, sudbina čitavog istraživanja može biti dovedena u pitanje<sup>45</sup>.

U slučaju kliničkog trajala, u Protokolu istraživanja treba:

- precizno definisati i opravdati upotrebu svih izabrani varijabli
- precizno definisati i opravdati načine merenja, dinamiku merenja i validnost izabranih mernih skala / mernih procedura
- precizno definisati buduću statističku metodologiju namenjenu evaluaciji, transformaciji i analizi eksperimentalnih vrednosti varijabli

### 3.2.1. Primarna varijabla (variable)

**Primarna varijabla (variable)** obezbeđuje klinički relevantne dokaze, direktno povezane sa primarnim ciljom istraživanja. Njen izbor zavisi od ciljeva i oblasti istraživanja, a ona treba da odražava standarde i norme u toj oblasti (literatura ili iskustva prethodnih studija).

U kliničkim trajalima ranih faza, primarna varijabla je najčešće neka od mera bezbednosti i/ili efikasnosti primene tretmana (terapije, intervencije, protokola) dok se u kasnijim fazama ona može odnositi i na kvalitet života, ekonomičnost lečenja i sl. Primarna varijabla treba da obezbedi validnu i pouzdanu meru klinički relevantnog benefita ispitivanog treatmana u populaciji od interesa za istraživanje.

Obično postoji samo jedna primarna varijabla koja se koristi za određivanja veličine uzorka. Njen izbor je veoma delikatan i zahteva puno pažnje i preciznosti, jer tip primarne varijable često nije ni očigledan ni jedinstven.

Na primer, u eksperimentalnom istraživanju kojim se ispituje efekat novog preparata za snižavanje hipertenzije, jasno je da će primarna varijabla biti sistolni i/ili dijastolni krvni pritisak.

Međutim, klinička studija u onkologiji može da ispituje efekat terapije izborom različite primarne varijable: tumorskog odgovora<sup>46</sup>, trajanja tumorskog odgovora (eng. *RR – Response Duration*)<sup>47</sup>, vremena do progresije bolesti (eng. *TTP – Time to Progression*)<sup>48</sup> itd.

<sup>45</sup> Na primer, nemogućnosti verifikacije ciljeva istraživanja usled propusta pri definisanju primarne ili sekundarne varijable; negativni rezultati statističke analize nastali primenom sužene klase statističkih tehniku koja je nametnuta izborom pogrešnih tipova varijabli; nereprezentativnost uzorka usled prevelikog varijabiliteta nastalog zbog propusta pri definisanju varijabli koje čine kriterijume za uključivanje subjekata u uzorak, i sl.

<sup>46</sup> Tumorski odgovor je varijabla koja obično ima 4-5 kategorija (eng. *NED - No Evidence of Disease* u hirurgiji, *CR - Complete Response*, *PR - Partial Response*, *SD - Stable Disease*, *PD - Progression of Disease*)

Čak i kada je primarna varijabla preciznije određena, česte su dalje dileme: u kliničkoj studiji sa ciljem ispitivanja efekta lečenja anemije suplementima gvožđa, izabran je hemoglobin (Hgb) kao primarna varijabla. Međutim, istraživači i tada imaju brojne nedoumice:

- Da li je dovoljno poređiti vrednosti Hgb samo na početku i na kraju terapije?
- Ili je bolje poređiti vrednosti Hgb merene više puta tokom terapije? Koliko puta vršiti merenje?
- Ili je možda bolje poređiti promenu vrednosti Hgb u odnosu na granice normalnih vrednosti? Koliko puta vršiti merenje? Itd.

Pri izboru primarne varijable za verifikaciju ciljeva istraživanja, treba uvek imati na umu da od njenog izbora zavise metode buduće statističke analize a samim tim i odgovori na postavljena istraživačka pitanja. Bez dovoljno pažnje, može se desiti da se ostane bez njih.

U prospektivnim kliničkim istraživanjima, po završetku faze planiranja, redefinisanje primarne varijable nije prihvatljivo. Zato se treba pridržavati sledećeg:

- Mora postojati jedna tzv. glavna primarna varijabla koja će biti u službi proračuna obima uzorka, snage studije i verifikacije primarnog cilja istraživanja (čak i u slučajevima kada je predviđeno da se primarni cilj evaluira korišćenjem više različitih varijabli).
- Izbor primarne varijable mora biti dokumentovan i zasnovan na njenom praktičnom značaju (kliničkom, farmakološkom, biološkom), objektivnosti i drugim karakteristikama relevantnim za istraživanje.
- Primarna varijabla mora biti precizno definisana.
- Mora biti definisan i preciziran način merenja vrednosti primarne varijable, merne skale / merne procedure, dinamika merenja.
- Mora biti definisana statistička metodologija namenjena transformacijama, analizi i prikazu uzoračkih vrednosti (podataka) primarne varijable.

U kliničkom trajalu, sve prethodno navedeno mora biti sadržano u Protokolu istraživanja, pre njegove realizacije.

U slučajevimu kada je otežano evaluirati samo jednu primarnu varijablu tokom više merenja, koristi se tzv. **Mešovita varijabla** koja nastaje integracijom i kombinacijom više varijabli. U Protokolu istraživanja kliničkog trajala za takav tip varijable obavezno je obrazloženje i opravdanje njene upotrebe, opisivanje algoritma za njen izračunavanje, navođenje detalja njene buduće statističke analize (analiza samo mešovite varijable ili i analiza njenih odvojenih komponenti u slučaju postojanja kliničke opravdanosti za to).

Kada postoji potreba za više primarnih varijabli, od kojih svaka može da bude u službi ispitivanja efekata terapije, definiše se **Višestruka primarna varijabla**. U Protokolu istraživanja kliničkog trajala tada treba definisati varijable koje čine višestruku primarnu varijablu, obrazložiti neophodnost njenog izbora, objasniti njenu vezu sa istraživačkom i ostalim hipotezama, navesti planirani pristup statističkom zaključivanju (način analize i tumačenja ovakve varijable kao i njen uticaj na grešku I reda).

Kada direktno merenje efekta nije izvodljivo, indirektno merenje omogućava **Surogat varijabla**. U Protokolu istraživanja kliničkog trajala tada takođe treba definisati ovaku varijablu, obrazložiti neophodnost njenog izbora, objasniti njenu vezu sa istraživačkom i ostalim hipotezama, navesti planirani pristup statističkom zaključivanju. Ovaj tip varijable ne može da pruži

<sup>47</sup>Za podgrupu pacijenata sa kompletним/parcijalnim tumorskim odgovorom (CR+PR<sup>48</sup>), trajanje tumorskog odgovora predstavlja uređen par varijabli od kojih jedna ukazuje na vreme a druga na ishod (postoji/prestao) tumorskog odgovora svakog pacijenta

<sup>48</sup>Za podgrupu pacijenata sa kompletним/parcijalnim tumorskim odgovorom ili stabilnom bolešću (CR+PR+SD<sup>48</sup>), vreme do progresije bolesti predstavlja uređen par varijabli od kojih jedna ukazuje na period a druga na ishod (bez/sa progresijom) bolesti

kvantitativnu meru kliničkog benefita povezanog sa neželjenim efektima te samim tim ne može biti tačan prediktor terapijskog ishoda<sup>49</sup>.

### 3.2.2. Sekundarna varijabla (variable)

Sedundarna varijabla (ili variable) pruža podršku primarnom cilju istraživanja i primarnoj varijabli<sup>50</sup> ili se odnosi na sekundarni cilj (evaluira efekat, podnošljivost, aktivnost biomarkera i sl.). Njihov broj ne treba da bude preterano veliki, već pažljivo i racionalno ograničen.

Skoro sve navedene odrednice koje su odnose na primarnu, važe i za sekundarnu varijablu.

### 3.2.3. Ostale varijable

U biomedicinskim istraživanjima se koriste i mnoge druge varijable čija je uloga veoma važna.

**Varijabla globalne procene** - pruža informacije o opštem utisku istraživača o stanju bolesti ili promeni stanja bolesti. Ove varijable imaju subjektivnu komponentu baziranu na nekoj od skala procene, a često se koriste u neurologiji, psihijatriji, psihologiji i sl.

Ukoliko se varijabla globalne procene koristi kao primarna ili sekundarna, tada u Protokolu istraživanja kliničkog trajala treba detaljno objasniti povezanost izabrane skale procene sa primarnim ciljem, validnost i pouzdanost takve skale, metode pristupa njenim nedostajućim vrednostima<sup>51</sup>, metode opisa i analize njenih podataka i sl.

**Kriterijumi za uključivanje (izbor) subjekata u uzorak (kriterijumi za uključenje)** - Ove varijable pružaju informacije o postavljenim kriterijumima za izbor subjekata u uzorak (tj. uključenje subjekata u studiju). O njima će više biti reči u poglavljiju 3.3. *Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole*.

**Evaluacija bezbednosti i podnošljivosti** - Izbor varijabli za evaluaciju bezbednosti i podnošljivosti zavisi od niza faktora<sup>52</sup>. Glavna okosnica praćenja bezbednosti i podnošljivosti leka jesu razni laboratorijski testovi i podaci vezani za njih (hematološki i biohemski parametri; vitalni znaci; klinički neželjena dejstva /bolesti, njihovi znaci i simptomi i sl.).

**Neželjena dejstva (Neželjeni događaji)** – varijable namenjene evidenciji *neželjenih događaja*<sup>53</sup> koji mogu da ugroze nastavak terapije ili izazovu njen prekid (ozbiljna neželjena dejstva). Kada se pojave, takvi događaji se evidentiraju, a o njihovom nastanku se informišu nadležni (glavni istraživač). U svetu se ulažu napor da se načini jedinstven šifrarnik neželjenih događaja kako bi se olakšalo prikupljanje, sumiranje, sistematizacija i uopšte manipulacija takvom vrstom podataka u svim kliničkim istraživanjima.

<sup>49</sup>Na primer, ona može da meri povezanost tretmana sa nekim farmakološkim mehanizmom ali ne može da pruži dovoljno informaciju o krajnjem efektu lečenja, bilo pozitivnom ili negativnom.

<sup>50</sup>Recimo, u onkologiji, primarna varijabla meri efekat terapije kroz učestalost pozitivnog tumorskog odgovora dok je sekundarna varijabla surogatna mera efekta iskazana kroz vreme do neuspeha terapije.

<sup>51</sup>Na primer izbor i opravdanost izabrane aproksimacije nedostajućih vrednosti.

<sup>52</sup>Znanja iz pretkliničkih ili ranijih kliničkih studija o farmakodinamičkim i/ili farmakokinetičkim svojstvima testiranih lekova i mogućim posledicama; znanja o neželjenim efektima blisko povezanih lekova; izbor način primene leka (napr. oralno ili intravenski); izbor populacije od interesa; izbor uzorka nad kojim će se realizovati istraživanje; predloženo trajanja kliničke studije i sl.

<sup>53</sup>To su događaji ili dejstva koja mogu subjektu da ugroze život, pogoršaju zdravlje ili opšte stanje, izazovu ozbiljna oštećenja nekih organa (poremećaj rada srca, bubrega, jetre; promena stanja svesti); pojavu pridruženih oboljenja i sl.

U nekim slučajevima, neželjene događaje je teško razlikovati od uobičajenog stanja bolesti<sup>54</sup>. Tada se evidentiraju urgentna neželjena dejstva dok se neželjeni događaji manje težine ignorisu i, samo ukoliko se ponove, beleže se kao neželjeni događaji.

Evaluacija bezbednosti i podnošljivosti je višedimenzionalni problem. Neka neželjena dejstva su poznata i specificirana te ih je moguće izbeći, sprečiti ili ublažiti sistematskim praćenjem realizacije kliničkog trajala tzv. monitoringom. Međutim, opseg mogućih neželjenih događaja je mnogo širi te su nove i nesagledive posledice uvek moguće.

**Kriterijumi za isključivanje subjekata iz studije (kriterijumi za isključivanje iz studije)** - Ove varijable pružaju informacije o postavljenim kriterijumima za isključivanje subjekata iz studije (teži prekršaj protokola, ozbiljan neželjeni događaj). Dužnost istraživača jeste da prekine ispitivanje na subjektima u situacijama koje mogu da unesu pristrasnost<sup>55</sup> u istraživanje ili kada subjekti na bilo koji način mogu biti ozbiljno ugroženi (životna ugroženost, pogoršanje zdravlje ili opštег stanja, opasnost od ozbiljnih oštećenja nekih organa, opasnost od pojave nekih oboljenja i sl.)

**Druge varijable** – to su mnoge druge varijable koje su u funkciji obezbeđivanja ostalih relevantnih informacija značajnih za istraživanje kao što su demografske karakteristike subjekata, kliničke karakteristike oboljenja, faktori rizika, porodična anamneza, prethodne terapije i njihove karakteristike i sl.

### 3.3. Varijabilitet i pristrasnost. Mehanizmi kontrole

Kao što je više puta pomenuto, cilj svakog istraživanja u biomedicini jeste objektivno otkrivanje nekih zakonitosti i generalizacija dobijenih rezultata na populaciju od interesa. Da bi se rezultati neke studije mogli uopštiti, neophodno je da ono ima tzv. *internu validnost*. **Internu validnost** predstavlja stepen (nivo) kojim se rezultati studije mogu zaista pripisati efektima korišćenih tretmana u istraživanju.

Osnovna ideja vodilja u kliničkim trajalima jeste poređenje dve ili više grupa subjekata (bolesnika, pacijenata) koje se razlikuju samo po tretmanu koje primaju. U slučaju da se ispitivane grupe, osim primljenog tretmana, razlikuju po još nekim karakteristikama (demografske karakteristike, težina oboljenja, i sl.), dobijeni ukupni rezultati istraživanja neće moći da se pripisu samo ispitivanom tretmanu već se sa pravom može posumnjati da su oni uslovljeni nekim od početnih razlika uzoračkih grupa. Takvo istraživanje gubi internu validnost.

Da se ne bi desila opisana situacija, potrebno je držati pod kontrolom varijabilitet što većeg broja faktora, nekada čak i onih koji nisu direktno od značaja za istraživanje. Tek onda se može ispitivati stvarna razlika u efikasnost primenjenih tretmana.

#### Varijabilitet

U biomedicini ne postoji jasna, precizna i jedinstvena definicija varijabiliteta. Subjekti u uzorku nisu uniformni (slični) jer imaju različite karakteristike, reakcije, percepcije čak i *sami sa sobom* u identičnim uslovima.

<sup>54</sup>Na primer, promjeno stanje svesti kod psihijatrijskih bolesnika nekada je uobičajeno stanje bolesti, a nekada neželjeni događaj.

<sup>55</sup>Na primer, kada postoji neki oblik nesaradnje subjekata - svojevoljno uzimanje lekova koji su zabranjeni tokom trajanja studije, samovoljno menjaju dinamiku ordiniranja leka i sl. Ili kada dođe do promene stanja subjekata nezavisno od istraživanja – trudnoća, saobraćajna nesreća i sl.

Faktori koji utiču na varijabilitet (tzv. *izvori varijabiliteta*) mogu biti potpuno poznati, mogući i nepoznati.<sup>56</sup>

Za nepoznate izvore varijabiliteta se koristi statistički termin **slučajni varijabilitet** (eng. *random variation*). On se u većoj ili manjoj meri javlja tokom svih oblika merenja<sup>57</sup>. Slučajni varijabilitet se doživljava kao konstantan *pozadinski šum* u čijem se prisustvu pokušava detektovati neki *signal* (efekat) koji je od interesa za istraživanje.

Raznim tehnikama se kontrolišu poznati i mogući varijabiliteti. Nepoznati izvori varijabiliteta ne mogu biti uklonjeni.

## Pristrasnost

Pristrasnost (predrasuda, eng. *Bias*) označava bilo kakvu tendenciju koja sprečava objektivno rasuđivanje ili zaključivanje. U istraživanju, pristrasnost se javlja kao sistematska greška koja može nastati u bilo kojoj fazi istraživanja. Pri tom, pitanje pristrasnosti ne može biti ograničeno na jednostavne inkvizicije - da li je ona prisutna ili ne. Umesto toga, potrebno je razmotriti tehnike za njeno sprečavanje a potom ih implementirati u pravila dizajna studija.

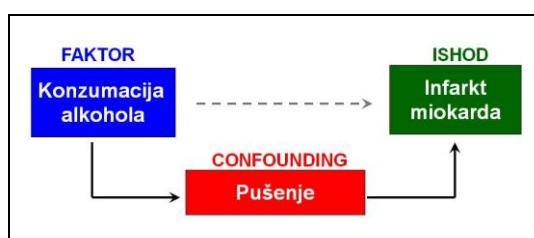
## Zbunjujući faktor (eng. *Confounding factor*)

U procesu ispitivanja povezanosti dve pojave (varijable) može se pojaviti treća (varijabla) koja je snažno povezana sa obe, zamagluje njihovu stvarnu povezanost i nameće potpuno drugačije zaključke. Varijabla koja je snažno povezana sa ispitivanim, a nije identifikovana, naziva se **zbunjujući faktor**. U njenom prisustvu, procena povezanosti ili rizika može biti značajno pogrešna.

**Primer 7.** Sprovedena je jedna studija parova sa ciljem ispitivanja povezanosti konzumiranja alkohola i pojave infarkta miokarda. Prvi rezultati studije pokazuju da subjekti koji konzumiraju alkohol imaju oko 2 puta povećan rizik od infarkta miokarda u odnosu na one koji ga ne konzumiraju, što je u suprotnosti sa literaturnim podacima koji sugerišu da njegova umerena konzumacija utiče na smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti, uključujući i infarkt miokarda.

Daljom analizom podataka, ustanovljeno je da u grupi konzumenata alkohola ima 50% pušača dok je u grupi koja nije konzumirala alkohol pušača bilo svega 10%.

Ove činjenice su ukazale na novu vezu između konzumacije alkohola i infarkta miokarda: konzumenti alkohola su češće pušači i češće oboljevaju od infarkta miokarda u odnosu na subjekte koji ne konzumiraju alkohol i koji su češće nepušači.



Pušenje je NEZAVISAN faktor rizika za ispitivani ishod (infarkt). Otuda je moguće da konzumenti alkohola imaju veću učestalost infarkta miokarda upravo zato što su uglavnom pušači, a ne zato što konzumiraju alkohol (slika 32.). ■

Slika 32. Zbunjujući faktor

Iz navedenog primera je jasno da je zaključivanje u prisustvu zbunjujućeg faktora je otežano. Ali još je teže identifikovati – zbunjujući faktor.

<sup>56</sup>Na primer, u pokušaju pronalaženja modela za predikciju težine novorođenčeta, poznati izvori varijabiliteta (gestacijsko vreme, pušački status majke, nadmorska visina itd.) i mogući izori (rasa, starost majke, i sl.) objašnjavaju svega ¼ prisutnog varijabiliteta. Uključivanjem dodatnih faktora (anemija ili druga oboljenja majke, rizična trudnoća, neuhranjenost itd.), objašnjava se dodatno jedan manji deo, tako da glavni izvori varijabiliteta ostaju i dalje nepoznati.

<sup>57</sup>Telesna temperatura ima mali opseg varijabiliteta, dok drugi parametri (telesna težina, sistolni/dijastolni pritisak, biohemski parametr) prilično variraju.

## Mehanizmi kontrole: Tehnike za kontrolu varijabiliteta i pristrasnosti

Ni jedna faza istraživanja nije pošteđena prisustva varijabiliteta ili pristrasnosti. Oni, u većoj ili manjoj meri, mogu da potiču od :

- uzorka - usled neobjektivnog ili pogrešnog izbora osnovne populacije, uzorka<sup>58</sup> ili subjekata, različitih kompozicija uzoračkih grupa tzv. *nehomogenost grupa*<sup>59</sup> i sl.
- dizajna istraživanja (faza planiranja) – obično nehatom ili neobučenošću istraživača (nepoznavanje, nekontrolisanje ili previđanje poznatih izvora varijabiliteta)
- faze realizacije, merenja i prikupljanja podataka - obično nehatom ili neobučenošću istraživača ili drugih učesnika<sup>60</sup>
- faze analize podataka - pristrasnost/neobučenost statističara (ili nestatističara) koji vrši analizu<sup>61</sup>
- faze interpretacije i prezentacije – pogrešno tumačenje, neobjektivnost istraživača ili statističara.

Kako nepoznati izvori varijabiliteta ne mogu biti odstranjeni, to je kontrola slučajnog varijabiliteta u fokusu statističkih principa dizajna. Pri tome je moguće eliminisati ili bar umanjiti identifikovane izvore pristrasnosti ili varijabiliteta, nekada izborom statističke metodologije, ali pre svega dizajnom studije. U tom cilju, zahteva se reprezentativni uzorak, balansiranost subjekata u odnosu na poznate izvore varijabiliteta i povećanje broja subjekata u slučaju velikog varijabiliteta.

Skoro sve naučne i statističke metode koje se primenjuju i integrišu u fazi dizajna i postavke kliničkih studija, upravo se bave minimiziranjem i poznatih i nepoznatih izvora pristrasnosti i varijabiliteta. U daljem izlaganju biće pomenute neke od takvih metoda.

### 3.3.1. Kriterijumi za uključivanje subjekata u istraživanje

Kriterijumi za uključivanje subjekata u istraživanje predstavljaju skup uslova koje subjekti moraju da ispune kako bi mogli da budu potencijalni učesnici u kliničkom istraživanju. Njima se određuje tzv. **okvir uzorka**. Ovi kriterijumi su u funkciji obezbeđivanja zakonskih i etičkih normi, kontrole poznatog varijabiliteta, slučajnog varijabiliteta, smanjenja pristrasnosti, obezbeđivanja reprezentativnosti uzorka i ujednačenosti uzoračkih grupa. Radi ilustracije, navode se neki od njih:

- određena vrsta i težina oboljenja kojom se obezbeđuje pripadnost subjekata populaciji za koju se očekuje da će imati najveću korist od ispitivane terapije (napr. u onkologiji pacijenti kliničkog stadijuma Ia, Ib, Ic i IIa)
- odsustvo određenih konkomitantnih i/ili hroničnih oboljenja kojima se sprečava eskalacija rizika kliničkog istraživanja (napr. odsustvo kardiovaskularnih oboljenja, hronične insuficijencije bubrega, anemije)
- restrikcije po osnovu raznih demografskih karakteristika čime se smanjuje varijabilitet i obezbeđuje balansiranost uzoračkih grupa (napr. osobe starije od 18 i mlađe od 50 godina; trudnice i dojilje ne smeju biti uključene)
- restrikcije po osnovu sadašnje ili prethodne terapije kojima se sprečava potencijalni sinergistički efekat prethodne terapije i ispitivanog leka ili očekivano neželjeno dejstvo

Kriterijumi za uključivanje subjekata u istraživanje nisu univerzalni već zavise od oblasti istraživanja, tretmana koji se ispituje, varijabiliteta u populaciji od interesa i sl.

<sup>58</sup>Narušava se nepristrasnosti i/ili reprezentativnost.

<sup>59</sup>Više osoba ženskog pola u jednoj a muškaraca u drugoj; neravnopravan odnos mlađih/starijih osoba, blažeg/težeg oblika oboljenja.

<sup>60</sup>Upotreba nepreciznih mernih instrumenata/aparata, neadekvatna dinamika merenja, neobučen/nestručan kadar, *pristrasnost iz prisećanja* ispitnika kod anketa namenjenih retrospektivnim studijama, pristrasnost istraživača prilikom procene (bolje ocene efekta eksperimentalnog leka), smanjenje obima uzorka usled isključivanja subjekata iz studije (neželjeni događaji, nesaradnja), odustajanje od strane bolesnika (eng. *drop out*)

<sup>61</sup>Pogrešan pristup analizi – u izboru metoda ili njihovoj primeni usled nerazumevanja, nestručnosti, nehata.

### 3.3.2. Tehnike za izbor uzorka: uzorkovanje

Postoji više metoda i tehnika za izbor uzorka i one se u ovom radu neće detaljno analizirati. Navođenje nekih od njih ima više ilustrativnu ulogu sa ciljem razumevanja brojnosti pokušaja za pronalaženjem najpogodnijih načina, mehanizama i tehnika kojima bi se uzorku obezbedila nepristrasnost i reprezentativnost. Naravno, podrazumeva se da će svaki istraživač u fazi planiranja studije u kojoj učestvuje, detaljno proučiti moguće tehnike za izbor uzorka.

U biomedicini, tehnike za izbor uzorka (uzorkovanje), s obzirom na način izbora subjekata (entiteta), dele se u dve velike grupe:

- **slučajni uzorci** - uzorci čiji se izbor zasniva na verovatnoći (svaki subjekat osnovnog skupa ima podjednaku verovatnoću da uđe u uzorak, odnosno svaki uzorak ima istu šansu da bude izabran kao predstavnik skupa). Dobija se nekom od metoda slučajnog izbora.
- **namerni uzorci** - uzorci čiji izbor nije zasnovan na verovatnoći (dobijaju se namernim izborom subjekata za koje se smatra da su tipični i reprezentativni subjekti izabrane populacije od interesa - obično uslovjen kriterijumima za uključivanje u istraživanje). Većina kliničkih istraživanja se sprovodi na namernim uzorcima.

#### ➤ Slučajni uzorci

Metodama slučajnog odabira subjekata u uzorak (slučajno uzorkovanje), izbegava se subjektivnost, isključuje pristrasnost i pruža jednaku šansu svakom subjektu da bude izabran u uzorak.

Ove metode su pogodne za istraživanja u oblasti društvenih nauka (sociologija), razna ispitivanja tržišta, javnog mnjenja, navika, sklonosti subjekata, marketinška istraživanja, neka istraživanja u epidemiologiji.

- **Prost slučajan uzorak** (eng. *Simple random sample*)

Čine ga subjekti koji se na statistički slučajan način uključuju u uzorak (tablice slučajnih brojeva, računarsko generisanje slučajnih brojeva). Može se primeniti u okviru ostalih metoda kada se područje istraživanja svede na manje celine u kojima je jednostavan slučajni izbor moguć. U komunikaciji sa stručnjacima biomedicine, ovaj tip uzorka može poslužiti kao model za objašnjenje suštine slučajnog izbora - u statističkom smislu. Iako on nije najefikasniji metod uzorkovanja u praksi (ne pruža dovoljno informacija o podgrupama populacije), može pomoći u razumevanju ostalih metoda izbora uzorka..

- **Sistematski slučajan uzorak** (eng. *Systematic Random Sampling*)

Izbor subjekata iz izabrane populacije se vrši po nekom sistemu (svaki drugi davalac krvi, svaka treća trudnica, svaki 10-ti kupac). Često se koristi u praksi iako u nekim situacijama donosi rizik pristrasnosti<sup>62</sup> te zahteva oprez pri donošenju zaključaka.

- **Stratifikovani slučajni uzorak** (eng. *Stratified Random Sampling*)

Stratifikovani uzorak je vrsta uzorka koji se zasniva na raščlanjivanju osnovnog skupa na slojeve (stratume) iz kojih se potom biraju manji slučajni uzorci. Koristi se kada u populaciji od interesa postoji subpopulacije (stratumi) između kojih pojavi od interesa značajno varira. Stratumi se mogu definisati i po različitim karakteristikama subjekata (pol, starost, socioekonomski status, nivo obrazovanja) ili drugim uslovima.

<sup>62</sup>Na primer, u epidemiološkim anketama ako se bira svaki 25-ti broj telefona iz telefonskog imenika, biće izostavljena sva domaćinstva koja nemaju telefon.

Za svaki stratum se određuje slučajni uzorak čija je brojnost obično proporcionalna udelima stratuma u populaciji, iako to ne mora da bude pravilo.

Stratifikovani slučajni uzorak dobro predstavlja i ukupnu populaciju ali i stratume. Ovaj metod uzorkovanja ima veću preciznost (sa stanovišta statistike) od prostog slučajnog uzorka, jer je varijabilitet unutar stratuma manji od varijabiliteta populacije u celini te je pogodan za ispitivanje pojedinih pojava (povezanost faktora rizika i ishoda od značaja) u okviru različitih stratuma. Naravno, navedeno važi samo ukoliko unutar stratuma nema velikog varijabiliteta.

- **Klaster slučajni uzorak** (eng. *Cluster Sampling*)

Koristi se kada u brojnoj i rasutoj populaciji od interesa postoji više grupa (klastera). Klasteri se mogu definisati po različitim kriterijumima (naselja, gradovi, bolnice i sl.).

Nakon nasumičnog izbora određenog broja klastera, vrši se uzorkovanje ili celog klastera ili se u svakom od izabralih vrši uzorkovanje nekom do tehnika tako da brojnost uzorka obično bude proporcionalna udelima kastera u populaciji (ne mora da bude pravilo).

Klaster uzorkovanje jeste vrsta tzv. *višestepenog uzorkovanja* (eng. *Multi-Stage Sampling*) koje dopušta kombinovanje različitih tehnika uzorkovanja. Na taj način, višestepeno uzorkovanje omogućava bogatstvo probabilističkih metoda uzorkovanja kombinujući različite metode.

Višestepeni uzorak daje dobre podatke za populaciju u celini, ali ne i za pojedine klastera jer broj ispitanika u njima ipak nije dovoljan za zaključivanje.

➤ **Namerni uzorci**

Namerno uzorkovanje ne podrazumeva slučajan izbor subjekta u uzorak. Naime, istraživač bira subjekte isključivo prema svojoj ekspertskoj proceni. Kod kliničkih trajala i prospektivnih istraživanja, takav izbor mora biti u skladu sa kriterijumima za uključivanje u istraživanje (regrutovanje bolesnika tačno određenog tipa i težine oboljenja u jednoj ustanovi). Često se koriste u biomedicinskim istraživanjima.

Namerno uzorkovanje može biti *svrsishodno* ili *prigodno*.

**1. Svrshodni uzorak ili Uzorak tipičnih jedinica** (eng. *Purposive Sampling, Judgemental sampling*)

Svrshodnim uzorkovanjem subjekti se uključuju ciljano u uzorak, kako se pojavljuju. Na taj način istraživač pokušava da dobije uzorak koji će biti predstavnik populacije od interesa. Ovaj metod može biti veoma koristan u situacijama kada je potrebno brzo postizanje ciljanog uzorka. Koristi se u kliničkim studijama.

- **Kvota uzorak** (eng. *Quota sampling*)

Uzorak čine subjekti jedne grupe (100 žena; 200 osoba starosti od 20-30 godina). Ovaj tip uzorkovanja je opterećen pristrastanošću izbora ali, sa druge strane, omogućava kontrolu prema određenim, izabranim karakteristikama.

- **Grudva uzorkovanja** (eng. *Snowball sampling*)

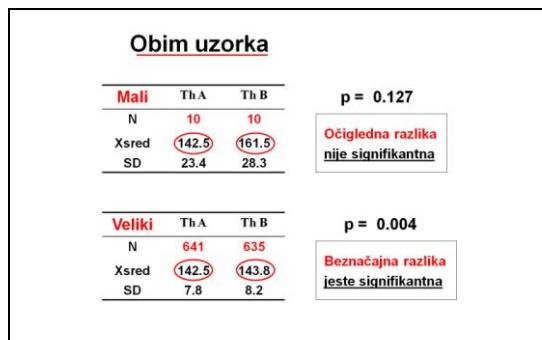
Do subjekata ovog uzorka se dolazi dobijanjem informacija o njima od već uključenih subjekata. Koristi se za teško dostupne populacije (intravenski narkomani, hiv zaraženi) i služe za ocenjivanje retkih karakteristika ili pojava u populaciji. Vremenski su zahtevne.

**2. Prigodan uzorak** (eng. *Convenience Sampling*)

Uzorak čine subjekti koji su dostupni, pristupačni, u blizini istraživača. Zbog prisutne pristrasnosti i nereprezentativnosti, nije pogodan za opisna istraživanja ili ispitivanje uzročno-posledične veze.

### 3.3.3. Obim uzorka

Obim uzorka predstavlja broj subjekata (entiteta) u uzorku. Poznato je da pored specifičnih karakteristika subjekata koji uzorak čine, potrebno je da i njegov obim bude dovoljno veliki. Deo statističke metodologije omogućava izračunavanje optimalnog obima uzorka te je otuda pitanje izbora uzorka i *statističko pitanje*.



Slika 33. Mali vs veliki uzorak

Obim uzorka **ne treba** da bude (Slika 33.; [15,16]):

- **premali** - očigledna razlika ne može da se verifikuje (detektuje) statističkim testovima
- **preveliki** - beznačajna klinička (praktična) razlika jeste statistički signifikantna

**Broj subjekata treba da bude pažljivo proračunat.**

Naime, uzorci malog obima često dopuštaju varijabilitetu da preuzeme kontrolu te se narušava njegovo svojstvo reprezentativnosti. Uz to, kod malog uzorka se povećava šansa ili da neka razlika bude lažno pozitivna ili da se važna razlika statističkom metodom ne registruje kao statistički signifikantna. Mnogi publikovani rezultati kojima nije potvrđena postavljena naučna hipoteza, nikada ne bi ni imali šansu da je potvrde – jer su istraživanja imala suviše mali obim uzorka. Sa druge strane, uzorci velikog obima su obično nedostizni (etika; izvodljivost; skupe laboratorijske i dijagnostičke procedure; kadar; retkost oboljenja i sl.).

Zato se o veličini uzorka mora razmišljati u fazi planiranja istraživanja.

**Optimalan obim uzorka** znači da on bude dovoljno veliki tako da je u stanju da omogući naučno validnu verifikaciju postavljenih ciljeva, odnosno da omogući istovremeno i kontrolu varijabiliteta i optimizaciju realnih uslova istraživanja.

Proračun obima uzorka se vrši pomoću brojnih statističkih metoda. To nije trivijalan zadatak jer je za primenu takvih metoda često potrebno ozbiljno poznавање statističke metodologije kao i problema biomedicine. Sa druge strane, izbor metode je takođe delikatan jer zavisi od:

- tipa i cilja istraživanja (opsvraciono/eksperimentalno, klinički trajal - dizajn, tip, faza)
- broja uzoračkih grupa i njihovog odnosa
- tipa glavne primarne varijabe kojom se verifikuje cilj
- izvesnih polaznih procena (poticu od podataka prekliničke studije, pilot studije, kliničkog trajala ranijih faza, sličnih studija, literature),
- izbora statističke metodologije i definisanih hipoteza (izbor testa i definisana nulta i alternativna hipoteza - jednostrana ili dvostrana - sa stanovišta tehnike za proračun uzorka),
- verovatnoće greške I vrste ( $\alpha$ )
- predviđene ili zadate snage studije ( $1-\beta$ ), odnosno verovatnoće greške II vrste ( $\beta$ )
- mere napuštanja istraživanja (u %) od strane subjekata (komplijansa, neželjeni događaji), itd.

Uvažavanjem i analizom svih ovih karakteristika, bira se statistička tehnika kojom se izračunava optimalni obim uzorka.

➤ **Obim uzorka za kliničke trajale faze II** [32, str. 38-42]

Izračunavanje obima uzorka za kliničke trajale nije jednostavno jer zavisi od njegovih ciljeva, dizajna, prirode primarne varijable, broja komparativnih grupa i sl. Metoda ima mnogo tako da se za proračun obima uzorka obično koriste specijalizovani statistički softveri razvijeni upravo za takvu svrhu. Ilustracije radi, u daljem tekstu će biti opisano nekoliko metoda za proračun obima uzorka za klinički trajal faze II.

Klinički trajali faze II imaju za ciljeve ispitivanje efikasnosti, sigurnosti i mogućnosti dalje primene nekog eksperimentalnog tretmana. Pri tome, efikasnost se iskazuje stopom, proporcijom pacijenata koji imaju pozitivan terapijski efekat (definiše se specifično za svaku terapiju i kliničku oblast). Veličina uzorka je obično od 50 do 300 bolesnika iz populacije bolesnika sa određenom bolešću za koje se smatra da će imati najviše koristi od novog tretmana. Sprovodi se često multicentrično - istovremeno u više centara (1-4 centara).

Klinički trajali faze II uglavnom nemaju formalan komparativni dizajn i retko su randomizovani (kada jesu, to je samo radi nepristrasnog raspoređivanja pacijenata u više istovremenih studija faze II). Najozbiljnija greška koja prati klinički trajal ove faze jeste potencijalno odbacivanje efikasnog tretmana (leka).

Osnovna ideja u dizajnu ovih kliničkih studija jeste da se na osnovu zadatih veličina odredi obim uzorka nad kojim će se klinički trajal realizovati. Zadate veličine su:

- $p_0=p_c \rightarrow$  verovatnoća (stopa, proporcija pacijenata) pozitivnog terapijskog odgovora u grupi sa standarnim (uobičajenim) tretmanom - dobijena na osnovu rezultata prethodnih istraživanja, literature, iskustva
- $p_1=p_e \rightarrow$  verovatnoća (stopa, proporcija pacijenata) očekivanog pozitivnog terapijskog odgovora u grupi sa eksperimentalnom terapijom – dobijena na osnovu rezultata pilot studije ili kliničkog trajala faze I
- $\alpha \rightarrow$  verovatnoća greške I vrste koja predstavlja verovatnoću pogrešnog prihvatanja eksperimentalnog tretmana kada on zapravo nije dostigao efekat postojećeg standardnog tretmana (greška odbacivanja nulte hipoteze).
- snage studije ( $1-\beta$ )  $\rightarrow$  verovatnoća prihvatanja novog tretman kada on zaista jeste bar dostigao efekat postojećeg standardnog tretmana. Ovim je jednoznačno određena  $\beta$  - verovatnoća pogrešnog odbacivanja eksperimentalnog tretmana kada on zapravo jeste dostigao bar efekat postojećeg standardnog tretmana (greška odbacivanje alternativne hipoteze).

Potom se određuje:

- $p$  - verovatnoća (stopa, proporcija pacijenata) pozitivnog terapijskog odgovora u grupi sa eksperimentalnom terapijom

kako bi se donela odluka da li eksperimentalni tretman treba proglašiti neefikasnim uz obustavu njegovog daljeg istraživanja i razvoja kliničkih studija faze III, ili eksperimentalni tretman treba smatrati dostašnjim daljeg ispitivanja i razvoja.

Kako klinički trajali faze II imaju ulogu *skrining testova*, to se najčešće zahteva da je  $\alpha = 0,05$  i snaga od 80-90%.

✓ **Klinički trajali faze II: Jednofazni (jednoetapni) dizajn**

Jednoetapni dizajn kliničkog trajala faze II predstavlja dizajn sa unapred fiksiranim brojem pacijenata. To je najstarija i najjednostavnija forma dizajna gde se ukupan broj subjekata koji čine uzorak unapred statistički proračunava. Pri tome, ne postoji formalne mogućnosti za raniji završetak studije.

Jednoetapni dizajn u proseku zahteva veći broj subjekata od drugih tipova dizajna, razvijenih poslednjih decenija.

**Primer 8.** Planira se ralizacija kliničkog trajala faze II sa ciljem ispitivanja uticaja visokih doza Peginterferon alfa-2A na virusološke stope pozitivnih odgovora (RR) kod pacijenata sa hepatitisom C genotipa 1. Poznato je da pozitivan virusološki odgovor na standardnu terapiju iznosi oko 40%. Istraživači očekuju da će pozitivan virusološki odgovor na eksperimentalni tretman (visoke doze Peginterferon alfa-2A) iznositi oko 60% (podaci iz pilot studije) što se smatra klinički važnim. Procenat pacijenata koji napuštaju lečenje (eng. *drop-out*) iznosi oko 5%.

Ako se planira da standardna i eksperimentalna grupa budu jednakih obima, za granicu statističke značajnosti od 5% i dvostrani test, na osnovu datih podataka treba odrediti obim uzorka za komparativnu kliničku studiju za koju se zahteva snaga od 80%,.

Na osnovu datih informacija je:

$$Pk = 40\% = 0.40; Pe = 60\% = 0.60; \alpha = 0.05; \text{Power} (1-\beta) = 80\% = 0.8 \text{ pa je } \beta = 0.2$$

Takođe je  $H_0: Pe = P_c$  vs  $H_a: Pe \neq P_c$  i odgovarajuće vrednosti su  $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$  i  $Z_\beta = 0.84$ .

Kako je  $N_k = N_e$ , obim uzorka se izračunava po formuli (Tabela 2.) i ima vrednost  $N=204$  ukupno tj. po grupi  $N_k = N_e = 102$  (kolona *Osnova* u Tabeli 2.)

Tabela 2. Obim uzorka za zadatu kliničku studiju

Zadaju se (kontrolišu) vrednosti	$\bar{P} = \frac{Pe + P_c}{2}$		$\Delta = Pe - P_c$		$n = \frac{\left[ Z_{1-\frac{\alpha}{2}} \cdot \sqrt{2 \cdot \bar{P} \cdot (1 - \bar{P})} + Z_\beta \cdot \sqrt{Pe \cdot (1 - Pe) + P_c \cdot (1 - P_c)} \right]^2}{\Delta^2}$			
	Osnova	Promena 1.	Promena 2.	Promena 3.	Promena 4.	Promena 5.	Promena 6.	Promena 7.
$P_c$ (✉ u Kont. grupa)	40%	40%	40%	40%	40%	40%	40%	40%
$Pe$ (✉ u Exp. grupa)	60%	60%	60%	60%	60%	60%	80%	45%
$\alpha$	0.05	0.01	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Power (%)	80%	80%	60%	90%	80%	80%	80%	80%
drop-out (%)	5%	5%	5%	5%	1%	12%	5%	5%
<b>R E Z U L T A T I :</b>								
$N_1 = N_k = N_e$ (po grupi)	97	145	61	129	97	97	22	1533
$N_2 = N_1 + "drop-out"$	102	152	64	136	98	109	23	1610
$N = 2 \cdot N_2$	204	304	128	272	196	218	46	3220

Treba primetiti da promene vrednosti  $\alpha$  i  $\beta$  (tj. snage-Power-a) utiču na promenu obima uzorka. Tako:

- smanjenjem  $\alpha$  (ne 0.05 već 0.01), obim uzorka se povećava (kolone: *Promena 1. vs Osnova*)
- smanjenjem Power-a (ne 80% već 60%), obim uzorka se smanjuje (kolone: *Promena 2. vs Osnova*)
- povećanjem Power-a (ne 80% već 90%), obim uzorka se povećava (kolone: *Promena 3. vs Osnova*)

Iz Tabele 2. se vidi da pooštravanjem uslova ( $\alpha = 0.01$  ili Power=90%) dolazi do povećanja obima uzorka.

Treba primetiti i da potreban obim uzorka zavisi od polaznih prepostavki u sledećem smislu:

- što je manje *drop-out-a* (ne 5% već 1%), obim uzorka je manji (kolone: *Promena 4. vs Osnova*)
- što je više *drop-out-a* (ne 5% već 12%), obim uzorka je veći (kolone: *Promena 5. vs Osnova*)
- što je razlika u efektu veća (nije  $Pe - P_c = 60 - 40\% = 20\%$  već je  $80 - 40\% = 40\%$ ), obim uzorka je manji (kolone: *Promena 6. vs Osnova*)
- što je razlika u efektu manja (nije  $Pe - P_c = 60 - 40\% = 20\%$  već je  $45 - 40\% = 5\%$ ), obim uzorka je veći (kolone: *Promena 7. vs Osnova*)

Iz Tabele 2. se vidi da veći broj drop-outa i manja razlika u efektu koju treba detektovati uslovjavaju veći obim uzorka.■

Pristup opisan u primeru 8. nastao je primenom tradicionalne formule za komparaciju dve proporcije. Pored nje, često se koristila i tzv. **Flemingova jednoetapna procedura** (eng. *Fleming one-stage procedure*) koja predstavlja adaptaciju industrijske metode kontrole kvaliteta na problematiku kliničkih studija faze II.

Naime, u industriji se definišu dve proporcije tj. dva nivoa rizika: *proizvođački rizik* i *rizik kupca*. Po analogiji, u kliničkim studijama faze II, procenat uspeha (proizvođački rizik) postaje stopa uspeha iznad koje će novi tretman biti prihvaćen za dalje ispitivanje kliničkim studijama faze III, dok mali procenat uspeha (rizik kupca) postaje granica ispod koje novi tretman treba da bude odbijen za dalje ispitivanje ili razvoj.

Za zadate vrednosti  $\alpha$ , snagu studije i dve definisane granice (stopa (%) pozitivnog i negativnog uspeha), izračunava se obim uzorka. Potom se na izabranom uzorku testira novi tretman a odluka o njegovom odbijanju ili prihvatanju za dalju evaluaciju zavisi od toga da li uspešnost novog tretmana prevazilazi zadatu stopu uspeha.

Praktično, to znači da se za zadate  $p_0=p_c$ ,  $p_1=p_e$ ,  $\alpha$  i snagu studije  $(1-\beta)$  tj.  $\beta$ , nakon realizacije istraživanja na osnovu zabeležene verovatnoće  $p$  (stopa, proporcija pacijenata sa pozitivnim terapijskim odgovorom u eksperimentalnoj grupi) donosi se odluka o eksperimentalnom tretmanu na sledeći način:

- ako je  $p < p_0$ , eksperimentalni tretman se proglašava neefikasnim sa velikom verovatnoćom  $(1-\alpha)$  i obustavlja se njegovo dalje istraživanje
- Ako je  $p \geq p_1$ , eksperimentalni tretman se smatra dostojnjim daljem razvoju jer se njegova efikasnost procenjuje velikom verovatnoćom  $(1-\beta)$

Obim uzorka tada zavisi od postavljenih granica: niže stope uspeha (ispod koje se novi tretman proglašava neadekvatnim i napušta) i više stope uspeha (iznad koje će se tretman smatrati potencijalno korisnim i dostojnjim studije faze III). Što je uži raspon između ove dve granice (stope), to je potreban veći obim uzorka.

**Primer 9.** Nakon ekskizije karcinoma kolona stadijuma III, primenjuje se standardna adjuvantna hemoterapija (*5FU+Leukovorin*) čiji efekat, iskazan kroz 5-togodišnje preživljavanje bez recidiva bolesti, iznosi 30% ( $P_c=0.3$ ). Na osnovu rezultata kliničkog trajala faze I, od novog tipa hemoterapije se očekuje klinički značajno bolji efekat (klinički trajal faze I: efekat 50% tj.  $P_e=0.5$ ). Odrediti obim uzorka za kliničku studiju faze II ako je  $\alpha = 0.05$  i snaga studije 80% (tj.  $\beta=0.20$ ).

Na osnovu postojećih informacija, rezultat kliničkog trajala faze II će omogućiti ili prihvatanje novog leka za dalji razvoj ukoliko njegov efekat bude  $\geq 50\%$  ili napuštanje daljem ispitivanju ukoliko njegov efekat bude  $< 30\%$  (jer nije bolji od postojećeg tretmana).

Na osnovu datih informacija je:

$$P_0=P_k = 30\% = 0.30; P_1=P_e = 50\% = 0.50; \alpha = 0.05; \text{Power } (1-\beta) = 80\% = 0.8 \text{ pa je } \beta = 0.2$$

Takođe je  $H_0: P < P_0$  vs  $H_a: P \geq P_e$  i odgovarajuće vrednosti su  $Z_{1-\alpha} = 1.64$  i  $Z_{1-\beta} = 0.84$ . Koristeći formula:

$$Nc = Ne = \left\{ \frac{Z_{1-\beta} \cdot \sqrt{P_e \cdot (1-P_e)} + Z_{1-\alpha} \cdot \sqrt{P_0 \cdot (1-P_0)}}{P_e - P_0} \right\}^2$$

dobija se:

$$Nc = Ne = \left\{ \frac{0.84 \cdot \sqrt{0.5 \cdot 0.5} + 1.64 \cdot \sqrt{0.3 \cdot 0.7}}{0.5 - 0.3} \right\}^2 = \left\{ \frac{0.84 \cdot 0.5 + 1.64 \cdot 0.46}{0.2} \right\}^2 = \left( \frac{1.17}{0.2} \right)^2 = (5.87)^2 = 34.48$$

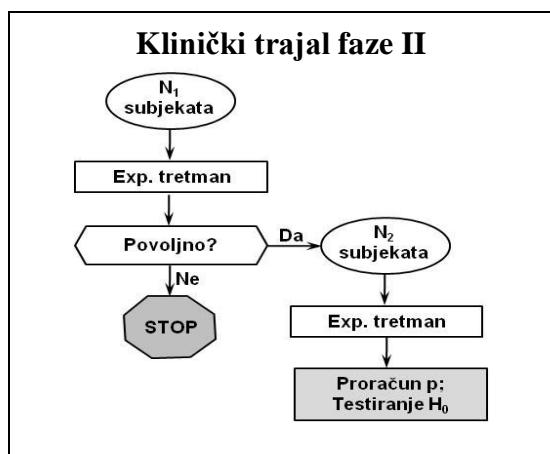
te je obim uzorka  $Nc=Ne=35$  odnosno ukupno  $N=70$  bolesnika sa karcinomom kolona stadijuma III. Dalje ispitivanje leka će biti obustavljeno ukoliko efekat bude postignut kod  $< 18$  bolesnika. ■

Flemingova procedura je robusna ali omogućava adekvatno planiranje i organizovanje resursa za sprovodenje kliničkog ispitivanja. Nedostatak metode jeste fiksirani obim uzorka kao i problem odluke koja ne može biti doneta dok se ne dobiju podaci nad svim subjektima koje obuhvata predviđeni obim uzorka.

## ✓ Klinički trajali faze II: grupni sekvenčijalni dizajn

Kliničkim studijama faze II, kao tzv. *Skrining testovima*, treba proceniti efikasnost i bezbednost eksperimentalnog tretmana. Ali u slučaju neefikasnosti ili toksičnosti novog tretmana, istraživanje treba što pre prekinuti što je kod jednofaznog dizajna nemoguće učiniti. Tako se nametnula ideja o sprovođenju istraživanja u etapama, tako što bi se evaluacija efekta ispitivanog tretmana vršila nakon svake od unapred definisanih faza (etapa) studije.

Ovakav dizajn istraživanja može da produži njegovo trajanje ali i da omogući njegov prevremen završetak ukoliko je broj pacijenata sa pozitivnim terapijskim odgovorom nedovoljno veliki nakon evaluacije prve faze (Slika 34.).



Najpre se zadaje potrebna stopa pozitivnog terapijskog odgovora (napr. granica kliničke značajnosti).

**Etapa 1:** uključuje se prvih  $N_1$  bolesnika u kliničku studiju. Ako se u etapi 1 ne ostvari tražena stopa pozitivnog odgovora, klinički trajal se prekida.

**Etapa 2:** ako se u etapi 1 ostvari tražena stopa pozitivnog odgovora, počinje etapa 2 u kojoj se uključuje dodatnih  $N_2$  bolesnika u kliničku studiju.

Na kraju etape 2, procenjuje se stopa odgovora i testira odgovarajuća hipoteza.

Slika 34: Grupni sekvenčijalni dizajn

Problem fiksne veličine uzorka u jednoetapnom modelu Fleming-a rešen je na više načina. Jedno od prvih rešenja je tzv. **Gehanova dvoetapna procedura** (*Gehan's Two-stage procedure*) u kome se koristi samo jedna granica, te je za proračun obima uzorka potrebljano zadati  $\alpha$ , snagu studije i minimalno prihvatljivu stopu uspeha.

Gehanova dvoetapna (dvofazna) procedura uzorkovanja je razvijena sa ciljem da smanji veličinu uzorka kada je stopa uspešnosti manja od nekog preporučenog standarda. Naime, obim uzorka u drugoj etapi zavisi od uspeha u etapi 1 (manji broj subjekata ako je stopa uspešnosti u etapi 1 visoka). Kratka etapa 1, u kojoj se odluka o odustajanju od tretmana koji ne ispunjava standard donosi sa minimalnim sredstvima, predstavlja najveću prednost Gehanovog modela. Sa druge strane, nedostaci ove metode su često preveliki obim uzorka u etapi 2 (nekada veći od obima dobijenog Flemingovom procedurom) kao i nemogućnost određivanja ukupne veličine uzorka dok se ne završi procena uspešnosti u etapi 1.

**Primer 10.** (podaci iz primera 9.) - Nakon ekscizije karcinoma kolona stadijuma III, primenjuje se standardna adjuvantna hemoterapija (*5FU+Leukovorin*) čiji efekat, iskazan kroz 5-togodišnje preživljavanje bez recidiva bolesti, iznosi 30% ( $P_c=0.3$ ). Na osnovu rezultata kliničkog trajala faze I, od novog tipa hemoterapije se očekuje klinički značajno bolji efekat (klinički trajal faze I: efekat 50% tj.  $P_e=0.5$ ). Odrediti obim uzorka za kliničku studiju faze II ako je  $\alpha = 0.05$ , snaga studije 80% (tj.  $\beta=0.20$ ), a minimalna prihvatljiva granica kliničke značajnosti je  $P_0 = 50\%$ .

Kako je  $p=P_0 = P_e = 50\% = 0.50$ ;  $\alpha = 0.05$  i snaga studije 80%, za određivanje obima uzorka koristi se *Gehanova dvoetapna procedura za trajale faze II – tabela za obim uzorka* ( $Snaga=0.8$ ,  $\alpha=0.05$ ) u kojoj važe oznake (Tabela 3.):

- I red:  $p$  - potrebna stopa uspeha ( $50\% = 0.5$ )
- II red:  $N_1$  - veličina uzorka za etapu 1

c. I kolona:  $r^{63}$  - broj uspeha u etapi 1

- Broj u svakoj ćeliji jeste veličina uzorka za etapu 2
- Prazne ćelije na donjem desnom delu tabele ukazuju na veću stopu uspešnosti od očekivanog, te etapu 2 treba nastavi korišćenjem broja u poslednjem popunjrenom redu kolone (za zadatu granicu).

Tabela 3. Gehan's two stage procedure: Sample size (za Power=0.8,  $\alpha=0.05$ )

p	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75
N <sub>1</sub>	32	16	10	8	6	5	4	4	3	3	3	2	2	2	2
r															
1		38	65	77	90	95	96	96	85	85	85	45	45	45	45
2	10	55	82	91	93	88	70	70	31	31	31				
3	21	68	90	91	78	58	22	22							
4	30	77	89	81	49	17									
5	38	82	82	61	12										
6	45	84	68	35											
7	51	83	48	6											
8	56	79	25												
9	60	73	2												
10	63	64													
11	66	52													
12	68	39													
13	68	23													
14	68	7													
15	68														
16	66														
17	64														
18	61														
19	58														
20	53														
21	48														
22	43														
23	37														
24	30														
25	23														
26	15														
27	7														

(Preuzeto 02.11.2012.; Dostupno na: [http://www.stattools.net/SSizGehan\\_Tab.php](http://www.stattools.net/SSizGehan_Tab.php))

U ovom primeru, koristeći Gehanovu dvoetapnu proceduru za trajale faze II (Tabela 3.), pronalazi se u prvom redu zadata stopa uspeha  $p=p_e=0.5$  te se u drugom redu očitava  $N_1=3$  (Tabela 3. - crvene ćelije). To znači da je za I etapu potrebno uključiti 3 bolesnika kojima će se dati eksperimentalna terapija.

U zavisnosti od broja uspešnih odgovora u etapi 1, posmatra se kolona r na sledeći način (Tabela 3. - zelene ćelije tabele):

- ako nijedan pacijent nije postigao efekat (0/3), napušta se dalje ispitivanje novog tretmana
- ako je 1/3 pacijenata postigao efekat, u drugu etapu treba uključiti još 85 subjekata
- ako je 2/3 pacijenata postiglo efekat, u drugu etapu treba uključiti još 35 subjekata
- ako je 3/3 pacijenata postiglo efekat, prazna ćelija u preseku reda p=0.5 i kolone r=3, ukazuje da je efekat bolji od očekivanoog te treba u drugu etapu treba uključiti još 31 bolesnika (tj. još onoliko subjekata koliko određuje poslednji popunjeno red kolone za zadatu granicu p=0.5). ■

<sup>63</sup>U redu r=1 prazna prva ćelija ukazuje da ako bi zadata stopa uspeha bila samo 5% tj.  $p=0.05$  tada bi 1/32 uspeha u etapi 1 bilo nedovoljno, te bi se u takvoj situaciji klinička studija okončala, a ispitivani tretman odbacio.

**Sajmonova dvoetapna procedura** (eng. *Simon's two stage design*) rešava nedostatke i Flemingove i Gehanove procedure. Ona pruža dvoetapni postupak, gde je mala prva etapa usredstvena na odbacivanje tretmana ukoliko je zabeleženi efekat blizu minimalne stope uspešnosti, ali zadržava fiksiranu veličinu uzorka za obe faze čime se omogućava pravilno planiranje i organizacija resursa.

U Sajmonovoj dvoetapnoj procedure, veličine koje se koriste za utvrđivanje obima uzorka su isti kao u modelu Fleminga:  $\alpha$ , snaga studije, manja stopa uspeha za odbacivanje novog tretmana, veća stopa uspeha za prihvatanje novog tretmana. Zadavanjem ovih vrednosti, mogu se izračunati veličine uzorka za I i II etapu kao i ukupna veličina uzorka.

Potreban broj uspeha u I etapi je takođe definisan. Ako se taj broj premaši, može se otpočeti sa II etapom čak i ako nisu uključeni svi subjekti predviđeni I etapom. U slučaju da definisana stopa uspeha nije prekoračena na kraju etape 1, onda se klinički trajal prekida i tretman izuzima iz daljeg ispitivanja.

U etapu 2 su inkorporirani podaci etape 1 te se može definisati ukupna veličina uzorka i ukupan broj potrebnih uspeha. Klinički trajal se može prekinuti, a tretman biti prihvaćen za dalji razvoj u svakom momentu ako je potrebna stopa uspešnih ishoda dostignuta ili prekoračena. Ako se ona ne dostigne ni krajem etape 2, novi tretman se izuzima iz daljeg ispitivanja i razvoja.

Sajmon obezbeđuje dva neznatno različita modela (procedure) koji obezbeđuju veću efikasnost metode (tj. manji obim uzorka) favorizovanjem ranog odbacivanja ili ranog prihvatanja eksperimentalnog tretmana:

- **optimalan** – kada istraživač očekuje da će eksperimentalni tretman verovatnije biti odbačen
  - **minimaksni** - kada istraživač očekuje da će eksperimentalni tretman verovatnije biti prihvaćen
- Zbog navedenih prednosti, obe Sajmonove procedure se danas često koriste.

**Primer 11.** Za neko oboljenje poznato je da standardna terapija postiže pozitivan terapijski odgovor u oko 20% slučajeva. U ispitivanju je eksperimentalna terapija koja će se smatrati efikasnijom od standardne ukoliko je bar 20% bolja od standardne. Za  $\alpha = 0.05$  i snagu studije 80%, izračunati obim uzorka Sajmonovom dvoetapnom optimalnom metodom.

Kako je  $p_0 = 20\% = 0.20$ ;  $p_1 = p_e = 40\% = 0.40$ ;  $p_1 - p_0 = 0.40 - 0.20 = 0.20$ ;  $\alpha = 0.05$  i snaga studije 80% tj.  $\beta=0.2$ , testira se  $H_0: p \leq 0.2$  verus  $H_a: p \geq 0.4$ .

Za određivanje obima uzorka se koristi Tabela data na slici 35 (*Simon's optimal two stage design for Phase II trials – Table 1. Designs for  $p_1 - p_0 = 0.20$*  [33; str. 4]):

R. Simon									
<b>Table 1</b> Designs for $p_1 - p_0 = 0.20^a$									
Optimal Design									
Reject Drug if Response Rate					Reject Drug if Response Rate				
$p_0$	$p_1$	$\leq r_1/n_1$	$\leq r/n$	EN( $p_0$ )	PET( $p_0$ )	$\leq r_1/n_1$	$\leq r/n$	EN( $p_0$ )	PET( $p_0$ )
0.05	0.25	0/9	2/24	14.5	0.63	0/13	2/20	16.4	0.51
		0/9	2/17	12.0	0.63	0/12	2/16	13.8	0.54
		0/9	3/30	16.8	0.63	0/15	3/25	20.4	0.46
0.10	0.30	1/12	5/35	19.8	0.65	1/16	4/25	20.4	0.51
		1/10	5/29	15.0	0.74	1/15	5/25	19.5	0.55
		2/18	6/35	22.5	0.71	2/22	6/33	26.2	0.62
0.20	0.40	3/17	10/37	26.0	0.55	3/19	10/36	28.3	0.46
		3/13	12/43	20.6	0.75	4/18	10/33	22.3	0.50
		4/19	15/54	30.4	0.67	5/24	13/45	31.2	0.66
0.30	0.50	7/22	17/46	29.9	0.67	7/28	15/39	35.0	0.36
		5/15	18/46	23.6	0.72	6/19	16/39	25.7	0.48
		8/24	24/63	34.7	0.73	7/24	21/53	36.6	0.56
0.40	0.60	7/18	22/46	30.2	0.56	11/28	20/41	33.8	0.55
		7/16	23/46	24.5	0.72	17/34	20/39	34.4	0.91
		11/25	32/66	36.0	0.73	12/29	27/54	38.1	0.64
0.50	0.70	11/21	26/45	29.0	0.67	11/23	23/39	31.0	0.50
		8/15	26/43	23.5	0.70	12/23	23/37	27.7	0.66
		13/24	36/61	34.0	0.73	14/27	32/53	36.1	0.65
0.60	0.80	6/11	26/38	25.4	0.47	18/27	24/35	28.5	0.82
		7/11	30/43	20.5	0.70	8/13	25/35	20.8	0.65
		12/19	37/53	29.5	0.69	15/26	32/45	35.9	0.48
0.70	0.90	6/9	22/28	17.8	0.54	11/16	20/25	20.1	0.55
		4/6	22/27	14.8	0.58	19/23	21/26	23.2	0.95
		11/15	29/36	21.2	0.70	13/18	26/32	22.7	0.67

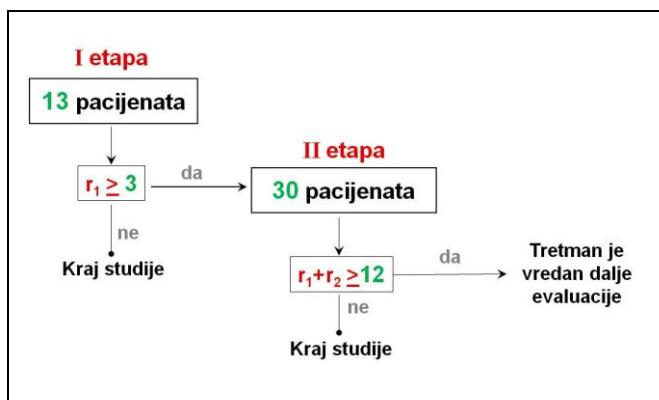
<sup>a</sup>For each value of  $(p_0, p_1)$ , designs are given for three sets of error probabilities ( $\alpha, \beta$ ). The first, second and third rows correspond to error probability limits (0.10, 0.10), (0.05, 0.20), and (0.05, 0.10) respectively. For each design, EN( $p_0$ ) and PET( $p_0$ ) denote the expected sample size and the probability of early termination when the true response probability is  $p_0$ .

Slika 35. Sajmonova optimalna (minimaksna) dvoetapna procedura za klinički trajal faze II

Na slici 35. (Table 1. Designs for  $p_1 - p_0 = 0.20$ ) važe se sledeće oznake:

- $p_0$ : verovatnoća uspešnosti ispod koje se realizacija kliničkog trajala prekida
- $p_1$ : verovatnoća uspešnosti iznad koje će tretman biti prihvaćen za dalji razvoj
- $n_1$ : maksimalna veličina uzorka u etapi 1
- $r_1$ : broj pozitivnih terapijskih odgovora u etapi 1 (ako nije dostignut unutar obima  $n_1$ , klinički trajal se završava i dalji razvoj tretmana se napušta; ako je dostignut, započinje etapa 2)
- $n$ : maksimalna veličina ukupnog uzorka (u etapi 1 i etapi 2)
- $r$ : ukupan broj pozitivnih terapijskih odgovora u obe etape (ako nije dostignut unutar obima  $n$ , klinički trajal se završava i dalji razvoj tretmana se napušta; ako je dostignut, novi tretman će biti prihvaćen za dalje ispitivanje i razvoj)
- **EN( $p_0$ )**: očekivani obim uzorka
- **PET( $p_0$ )**: verovatnoću ranijeg prekida kliničkog trajala kada je stvarna verovatnoća pozitivnog terapijskog odgovora  $p_0$
- uz svaku od kombinacija vrednosti za  $p_0$  i  $p_1$  (vrste) postoje po 3 podvrste od kojih se
  - I podvrsta odnosi na  $(\alpha;\beta)=(0.10;0.10)$
  - II podvrsta odnosi na  $(\alpha;\beta)=(0.05;0.20)$
  - III podvrsta odnosi na  $(\alpha;\beta)=(0.05;0.10)$
- uz svaku od kombinacija vrednosti za  $p_0$  i  $p_1$  (vrste) postoje po 2 grupe kolona od kojih se
  - I grupa kolona odnosi na **optimalni dizajn** (3. i 4. kolona tabele)
  - II grupa kolona odnosi na **minimaksni dizajn** (7. i 8. kolona tabele)

Za podatke date u ovom primeru, treba uočiti I grupu kolona (tj. 3. i 4. kolona tabele) za optimalni dizajn), vrstu za  $p_0=0.20$  i  $p_1=0.40$  i njenu II podvrstu za  $(\alpha;\beta)=(0.05;0.20)$ . Očitavaju se vrednosti  $\leq r_1/n_1$  je  $3/13$  tj. potrebno je  $3/13$  pozitivnih Th odgovora u I etapi i  $\leq r/n$  je  $12/43$  što znači da je potrebno ukupno  $12/43$  pozitivnih Th odgovora u obe etape (Slika 35; crveni pravougaonik).



Slika 36. Dijagram uključivanja pacijenata

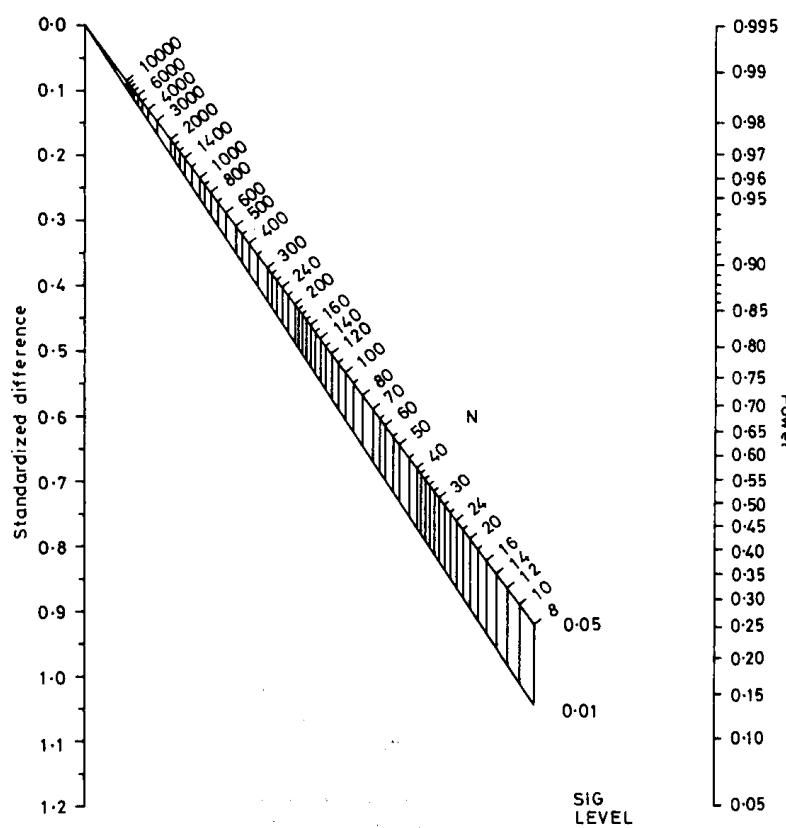
To znači da ako se u I etapi registruju bar  $3/13$  pozitivnih odgovora, prelazi se na II etapu u kojoj se uključuje još 30 subjekata. Ukoliko se u obe etape ( $N \leq 43$  subjekta) postigne bar 12 pozitivnih terapijskih odgovora, istraživanje se prekida jer se smatra da je eksperimentalni tretman vredan dalje evaluacije (Slika 36.). ■

#### ➤ Još neke metode za proračun obima uzorka

Navedeni primjeri za proračun obima uzorka su imali ilustrativan karakter te je jasno da u ovom radu nisu iscrpljene sve metode izbora uzorka za kliničke trajale faze II<sup>64</sup>. Za kliničke trajale ostalih faza, koriste se brojne druge metode za proračun obima uzorka.

Jedna od metoda je i tzv. **Altmanov nomogram** [26] (eng. *Altman's nomogram*) – grafički metod za izračunavanje obima uzorka (pomoću standardne greške i zadate snage studije) čiji je autor Douglas Altman, jedan od vodećih biostatističara današnjice (Slika 37.).

<sup>64</sup> Između ostalog, postoji i tzv. potpuno sekvencijalni dizajn po kome se evaluacija terapijskog efekta vrši nakon uključivanja svakog subjekta u trajal.



Slika 37. Altmanov nomogram

Uopšte, izbor metoda za izračunavanje obima uzorka zavisi od faze kliničkog trajala i njegovog tipa (ispitivanje superiornosti, ekvivalencije ili neinferornosti), ciljeva istraživanja, tipa primarne varijable, broja komparativnih grupa itd. Sa druge strane, modifikacija obima uzorka zavisi od odnosa *alokacije* ispitivanih grupa (tj. odnosa veličina grupa iskazanog kroz tzv. *koefficijent korekcije*), stepena saradnje subjekata, raspodele ishoda od značaja (u slučaju nepostojanja normalne raspodele, koristi se koefficijent korekcije za neparametarski test kojim se uvećava obim) itd.

U kliničkim studijama čiji ciljevi obuhvataju evaluaciju ukupnog preživljavanja, proračun obima uzorka je nešto kompleksniji i zahteva posebnu metodologiju koja nužno iziskuje dobro poznavanje analize preživljavanja.

Dosadašnji primeri su upotrebljeni samo u cilju ilustracije brojnosti i kompleksnosti izbora adekvatnih statističkih tehnika za izračunavanje obima uzorka, a ne njihovog nabranja.

Očekuje se da će svaki istraživač biomedicine u fazi planiranja istraživanja konsultovati biostatističara ili, u slučaju samostalnog izbora metode, pažljivo proučiti postojeće tehnike u cilju odabira najpogodnije metode.

#### ➤ Obim uzorka i multicentrični klinički trajali

Ako je kliničkim istraživanjem obuhvaćeno ispitivanje retkih oboljenja (očekivani broj raspoloživih subjekata je mali, često nedovoljan) ili je potrebno u kraćem vremenskom periodu završiti istraživanje, tada se organizuju tzv. *multicentrični klinički trajali*. Tada se za proračunat obim uzorka procenjuje u koliko centara treba sprovoditi istraživanje.

Multicentrični klinički trajali se mogu organizovati za trajale bilo koje faze:

- uključuje se nekoliko centara sa velikim brojem pacijenata ili veći broj centara sa malim brojem pacijenata

- na taj način se bezbeduje efikasnija evaluacija novih lekova nad potrebnim obimom uzorka u kraćem/razumnom roku
- pruža se bolja osnova za generalizaciju rezultata
- regrutovanjem obolelih iz šire populacije, simulira se buduća upotrebe leka
- angažovanjem većeg broja istraživača omogućava se bolje prosuđivanje vrednosti leka.

U multicentričnim kliničkim studijama treba voditi računa o:

- jasnom definisanju pojma *centar* (precizirati u Protokolu istraživanja) - u jednostavnim multicentričnim kliničkim studijama je svaki istraživač odgovoran za pacijente koje uključuje u istraživanje, a centar se obično identificuje sa istraživačem ili bolnicom. U kompleksnijim multicentričnim kliničkim studijama istraživač može da uključi i pacijente iz drugih bolnica
- načinu na koji se sprovodi Protokol istraživanja (jasan, sličan, poznat svim centrima)
- procedurama (standardizovane i sprovodljive u svim centrima)
- uravnoteženoj raspodeli pacijenata po centrima.

### 3.3.4. Maskiranje i randomizacija

#### ➤ Maskiranje (eng. Blinding)

Pristrasnost se u studiju može uvesti i podsvesno. Tako sud pacijenta, ili istraživača o stanju subjekta, može biti pod uticajem njegovog znanja o tretmanu ili rezultata merenja. Na sličan način, osoba koja vrši statističku analizu može uneti pristrasnost favorizujući metode kojima se ističe pozitivan efekat eksperimentalnog tretmana.

Ovakvi izvori pristrasnosti u istraživanjima se sprečavaju *maskirnjem* (eng. *blinding*). **Maskiranje** je tehnika pomoću koje se skriva pripadnost subjekta određenoj terapijskoj, eksperimentalnoj, kontrolnoj ili drugoj ispitivanoj grupi. U zavisnosti od kojih osoba se takva pripadnost skriva, razlikuju se:

- **jednostruko slepe** (eng. *single blind*) **studije** - samo pacijentima je nepoznata pripadnost uzoračkoj grupi (kontrolna, eksperimentalna, placebo, i sl.)
- **dvostruko slepe** (eng. *double blind*) **studije** – pripadnost uzoračkoj grupi je nepoznata za pacijente i istraživače
- **trostruko slepe** (eng. *triple blind*) **studije** - pripadnost uzoračkoj grupi je nepoznata za pacijente, istraživače i statističare.

#### ➤ Randomizacija (eng. Randomisation)

U više navrata je rečeno od kolike su važnosti nepristrasnost i reprezentativnost uzorka. U komparativnim istraživanjima, uzoračke grupe moraju da poseduju i svojstvo **komparabilnosti** (uporedivosti) pod kojim se podrazumeva inicijalno (početno) razlikovanje ispitivanih grupa SAMO po intervenciji (tretmanu, proceduri) koja se primenjuje. Time se obezbeđuje da varijable koje direktno zavise od primenjene intervencije pruže relevantne podatke o uticaju te intervencije.

To znači da ispitivane grupe treba da budu **homogene** (balansirane, bez statistički značajne razlike) po demografskim svojstvima pacijenata i svim ostalim karakteristikama koje su nezavisne od tretmana a moguće bi da utiču na ishod ili njegov krajnji efekat. Obično se zahteva homogenost grupe po inicijalnim (osnovnim, bazičnim) karakteristikama:

- **subjekata** - balansiranost po demografskim osobinama subjekata (pol, starost, zanimanje, itd.)
- **oboljenja** - balansiranost po težini bolesti, kliničkom i/ili patohistološkom stadijumu bolestii sl.
- **medicinskim procedurama** – njihova usaglašenost u smislu iste preciznosti uređaja, slično iskustvo stručnog kadra (napr. hirurzi) i sl.

Osnovna ideja kliničkih studija i njihov eksperimentalni dizajn upravo počivaju na homogenosti ispitivanih grupa. Naime, verodostojnost zaključaka kliničkih studija zasniva se na ideji da zabeležene razlike u ishodima (efektima) između ispitivanih grupa (eksperimentalne i kontrolne) potiču isključivo od različitog tretmana koje pacijenti primaju. Kada se pojave razlike između ispitivanih grupa, tada objašnjenja mogu biti sledeća: zabeležene razlike potiču od stvarnog efekta intervencije ili su rezultat puke slučajnosti ili su rezultat sistemske razlike ili pristrasnosti između ispitivanih grupa po drugim faktorima različitim od tretmana/intervencije.

Jedan od osnovnih mehanizama kontrole prostrasnosti i varijabiliteta jeste **randomizacija** - proces raspoređivanja subjekata u dve ili više eksperimentalnih grupa (dodela dva ili više eksperimentalnih tretmana) slučajnom metodom. *Slučajni metod* označava statističku slučajnost što znači da svaki potencijalni subjekat ima poznatu i jednaku verovatnoću da mu bude dodeljen jedan od tretmana.

Randomizacijom se postiže sledeće:

- kontroliše se namerna ili slučajna pristrasnost pri dodeli tretmana (ne nečiji izbor već statistički slučajan način dodeli tretmana),
- obezbeđuje se svakom potencijalnom učesniku poznata (obično jednaka) šansa u dodeli nekog od tretmana
- obezbeđuju se komparabilne (uporedive) grupe sličnih karakteristika (balansiranje poznatih izvora varijabiliteta po uzoračkim grupama)
- omogućava se postizanje validnosti budućih rezultata statističkih testova i metoda
- obezbeđuje se da selektovani subjekti čine reprezentativan uzorak ciljne populacije.

Raspodelom subjekata na slučajan način u ispitivane grupe obezbeđuje se, u proseku, da sve ispitivane grupe imaju što sličnije osobine. Na taj način, proces randomizacije ima za cilj obezbeđivanje sličnih nivoa svih faktora (poznatih i nepoznatih izvora varijabiliteta) u svakoj od ispitivanih grupa. Randomizacija zato predstavlja jedno od osnovnih svojstava eksperimentalnog dizajna.

Postoji više vrsta randomizacija a izbor metode zavisi od tipa istraživanja, broja uzoračkih grupa, prisutnog varijabiliteta i sl. O nekim od njih biće više reči.

#### ✓ Jednostavna randomizacija (eng. *Simple Randomization*)

Jednostavna randomizacija je ekvivalent bacanju novčića: za svakog subjekta koga treba uključiti u kliničku studiju, ukoliko padne *glava* - dodeljuje se eksperimentalni, ukoliko padne *pismo* - dodeljuje se kontrolni tretman.

Ovaj metod je jednostavan i lak za primenu pri čemu se randomizacione liste, za unapred preciziran obim uzorka, dobijaju korišćenjem generatora slučajnih brojeva ili odgovarajućih tablica slučajnih brojeva.

Iako je dodela tretmana potpuno slučajna i nepredvidiva, ova metoda može da prouzrokuje neuravnoteženost dodeli tretmana, naročito u kliničkim studijama manjeg obima, što može biti opasno jer nebalansirane uzoračke grupe redukuju predviđenu snagu studije.

**Primer 12:** Kliničkom studijom treba da se ispita efekat *Flonivina BS*<sup>65</sup> u odnosu na *Placebo*. Obim uzorka predviđa ukupno 10 subjekata sa akutnom dijarejom. Formirati randomizacione liste za ovu kliničku studiju.

Ako je sa F označena prpadnost *Flonivin BS* grupi a sa P pripadnost *Placebo* grupi, dobijene su sledeće dve randomizacione liste (R1 i R2):

R1 lista: F,F,P,F,P,F,P,F,P gde je 5-5 *podela* (tj. odnos grupa je F:P=5:5)

R2 lista: F,F,F,F,P,F,P,F,P,F gde je 7-3 *podela* (tj. odnos grupa je F:P=7:3)

<sup>65</sup> Flonivin BS se koristi kao terapija u slučajevima akutne dijareje.

U ovoj studiji sa 10 učesnika, odnos efekata tretmana (u zavisnost od izbora randomizacione liste) je

$$\frac{R1}{R2} = \frac{5-5 \text{ podela}}{7-3 \text{ podela}} = \frac{\frac{1}{5} + \frac{1}{5}}{\frac{1}{7} + \frac{1}{3}} = \frac{0.4}{0.476} = 0.84$$

što znači da 7-3 podela ima samo 84% efikasnosti 5-5 podele. ■

Čak i kada je dodela tretmana balansirana na kraju studije (tj. kada se dostigne isti broj subjekata po ispitivanim grupama za predviđeni obim uzorka), jednostavnom randomizacijom je takav ravnotežu gotovo nemoguće održavati u svakom trenutku tokom studije<sup>66</sup>.

Kako se klinički trajali prate (monitoring tokom njegovog ukupnog trajanja), obično postoji zahtev za postojanjem uravnoteženog broja subjekata po tretmanskim grupama u svakom trenutku njegovog trajanja.

#### ✓ **Blok randomizacija** (eng. *Block Randomization*)

Kao što je već napomenuto, jednostavna randomizacija ne garantuje ravnotežu obima tretmanskih grupa tokom trajanja istraživanja što može biti veoma opasno, naročito u slučajevima kada se karakteristike pacijenata menjaju kroz vreme (npr. pacijenti sa akutnom dijarejom imaju mnogo veće tegobe u prvom ili drugom danu nego u šestom ili sedmom). Takvu ranu neuravnoteženost je kasnije teško eliminisati te ona može postati izvor nehomogenosti ispitivanih grupa ili slučajne pristrasnosti tokom kasnijeg zaključivanja.

U cilju rešavanja navedenog problema, osmišljena je tzv. **Blok randomizacija** kojom se obezbeđuje uravnoteženost ispitivanih grupa u svakom trenutku putem podjednakog rasporeda dodeljivanja tretmana subjektima. Ovaj metod je baziran na upotrebi slučajnih permutacija (blokova) male serije oznaka (brojeva ili slova koji su pridruženi tretmanima) koje su slučajnim redosledom izabrane.

Blok randomizacijom se potencijalni učesnici raspoređuju u m-blokova obično 2n-veličine (4, 6, 8, 10, 16, 20). Potom se po 2n-pacijenata randomizuje u svakom od blokova, a zatim se vrši slučajan izbor takvih m-blokova. Ukoliko se koriste kompletni blokovi, obezbeđuje se jednak raspodela tretmana unutar svakog bloka.

**Primer 13.** Za dva tretmana A i B formiraju se blokovi veličine 2n=2\*2=4 (n=2 znači da u svakom od blokova mora da bude po 2 subjekta sa dodeljenim tretmanom A i po 2 subjekta sa dodeljenim tretmanom B). Tada postoji 6 različitih blokova veličine 4 tj. sve moguće permutacije su:

(1)AABB; (2)BBAA; (3)ABAB; (4)BABA; (5)ABBA; (6)BAAB

Ako je recimo obim uzorka N=16, tada se biraju 4 kompletne bloke slučajnim izborom: napr. (2)-(3)-(5)-(1) pa je randomizaciona lista: (2)BBAA; (3)ABAB; (5)ABBA; (1)AABB. ■

Veličina blokova zavisi od broja tretmana i trebalo bi da bude dovoljno kratka da spreči disbalans tretmana ali i dovoljno duga da spreči predvidljivost dodele tretmana. Preporučuje se da *veličina blokova bude najmanje duplo veća od broja tretmana* u kliničkoj studiji [34].

Kod prospektivnih istraživanja, **veličina blokova se ne navodi u Protokolu istraživanja, tako da je za kliničare i ostale istraživače izbor tretmana maskiran.**

Ukoliko veličina blokova nije maskirana (u otvorenim kliničkim studijama), redosled tretmana postaje često predvidljiv: na primer, za blok veličine 2\*2= 4 ako je redosled BAB? očigledno je da će poslednjem subjektu bloka biti dodeljen tretman A. Slično je sa AA?? gde je jasno da će sledeća dva subjekta dobiti tretman BB.

<sup>66</sup>Na primer, istraživanje može biti balansirano na kraju za 100 učesnika (50 vs 50 u grupama Eksperimentalna Th vs Standardna Th), ali prvih 10 subjekata može recimo biti raspoređeno u redosledu E,E,E,S,E,S,E (7-3 podela)

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Predvidljivost dodele tretmana može da dovede do pristrasnosti izbora, pa je rešenje ili maskiranje mahanizama blokova u otvorenim kliničkim studijama ili upotreba slučajne veličine bloka. U duplo slepim kliničkim studijama, pristrasnost selekcije i dodele tretmana je malo verovatna.

Blok randomizacijom se postiže ravnoteža broja učesnika u svakoj grupi (razlika između grupa je maksimalno pola veličine bloka) ali je u slučaju poznate veličine bloka moguća predvidljivost dodele tretmana.

Treba još primetiti da se potreba za samo jednim blokom slučajnih redosleda dodele tretmana suštinski svodi na jednostavnu (prostu) randomizaciju.

✓ **Stratifikovana randomizacija** (eng. *Stratified Randomization*)

Neuravnoteženost obima randomizovanih grupa je nepoželjna jer redukuje predviđenu snagu studije tj. moć statističkih testova. Ali neuravnoteženost prognostičkih faktora po ispitivanim grupama je još nepoželjnija jer može biti uzrok pogrešnih zaključaka pri proceni efekta tretmana. Otuda klinički trajal ne može biti validan ukoliko postoji disbalans prognostičkih faktora između tretmanskih grupa.

U slučaju postojanja neravnoteže prognostičkih faktora, potrebno je proceniti nivo razlika selektovanih faktora za koje se smatra da mogu uticati na konačan ishod tretmana, formirati odgovarajuće stratume, razvrstati subjekte po stratumima i potom izvršiti randomizaciju (jednostavnu ili blok) unutar svakog stratuma. Ovo su principi tzv. **Stratifikovane randomizacije**.

**Primer 14.** Poznato je da su za lečenje izvesnog oboljenja prognostički faktori starost (2 nivoa faktora:  $\leq 65$  god.,  $> 65$  god.) i pol (2 nivoa faktora: muški, ženski). Poznato je takođe da težina oboljenja pacijenata nije balansirana u dva različita centra (2 nivoa faktora: C1-hirurška, C2-internistička klinika) u kojima se klinički trajal sprovodi. Za ispitivanje novog leka E u komparaciji sa standardnim lekom S formira se  $2 \times 2 \times 2 = 8$  stratuma a potom se u njima vrši blok radomizacija (veličina bloka je  $2 \times 1 = 2$ ). Randomizacione liste po stratumima tada napr. izgledaju:

- Muškarci starosti  $\leq 65$  god iz C1: ES, ES, SE, SE, SE, ES...
- Muškarci starosti  $\leq 65$  god iz C2: SE, ES, SE, ES, ES, SE...
- Muškarci starosti  $> 65$  god iz C1: ES, ES, SE, SE, SE, ES...
- Muškarci starosti  $> 65$  god iz C2: SE, SE, ES, SE, ES, ES...
- Žene starosti  $\leq 65$  god iz C1: SE, ES, SE, SE, SE, ES...
- Žene starosti  $\leq 65$  god iz C2: SE, SE, SE, ES, ES, SE...
- Žene starosti  $> 65$  god iz C1: ES, SE, SE, SE, SE, ES...
- Žene starosti  $> 65$  god iz C2: SE, SE, ES, SE, ES, ES...

Na ovaj način je distribucija subjekata balansirana po tretmanima i uočenim nivoima neuravnoteženih prognostičkih faktora. ■

Randomizovanom stratifikacijom se balansiraju subjekti po inicijalnim (pol, starost, težina oboljenja, prisustvo/odsustvo dijabeta itd.) i/ili drugim karakteristikama čineći tako tretmanske grupe komparabilnim. Takođe, ovim pristupom se može povećati i snaga studije primenom statističkih metoda koje takve faktore uzimaju u obzir prilikom analize (napr. ANCOVA - analiza kovarijansi).

Kod randomizovane stratifikacije, veličina blokova treba da bude relativno mala kako bi se očuvalo balans malih stratum. Povećanjem broja stratifikovanih varijabli ili povećanjem broja nivoa unutar stratum, smanjuje se broj subjekata po stratumu.

U obimnim kliničkim trajalima, obično se ne koristi stratifikacija jer je malo verovatno da će kod tako velikih, prospektivnih i randomizovanih istraživanja doći do pojave nehomogenosti uzoračkih grupa subjekata.

✓ **Nejednaka randomizacija** (eng. *Unequal Randomization*)

U većini randomizovanih kliničkih studija se u eksperimentalne i kontrolne grupe uključuje jednak broj pacijenata jer je to statistički najefikasniji randomizacioni odnos koji obezbeđuje najveću moć statističkih testova za zadatu veličinu uzorka. Međutim, ovakav pristup nekada nije najekonomičnije rešenje, a nekada je etički ili praktično teško izvodljiv. Kada dva ili više tretmana koji se ispituju imaju značajno različite cene, može biti ekonomski opravdano da se randomizuje manje pacijenata u grupu skupljeg leka a više u u grupu jeftinijeg. U takvim situacijama se mogu postići značajne uštede usvajanjem manjeg randomizacionog odnosa (napr. odnos od 2:1) uz tek neznatan gubitak snage studije.

Međutim, u nekim kliničkim studijama, pogotovu kardiovaskularnim ili onkološkim, u kojima jedna grana lečenja spašava živote, a druga to nije u stanju (kardiologija - ugradnja stenta vs medikacija kod pacijenata sa ozbilnjim suženjem krvnih sudova) i gde preživljavanje pacijenata direktno zavisi od tretmana koji dobija, neophodno je da se randomizuje manje pacijenata u neefikasnijoj terapijskoj grupi.

Generalno, randomizacioni odnos od 3:1 dovodi do značajnog gubitka statističke moći, dok još ekstremniji odnosi nisu preterano korisni jer, pored drastičnog smanjenja snage studije, uzrokuju i značajno povećanje ukupne veličine uzorka.

Inače, **randomizovani duplo slepi klinički trajali predstavljaju tzv. zlatni standard kliničkih istraživanja.**

### 3.3.5. Planiranje statističke analize

Radi obezbeđivanja nepristrasnosti statističke analize i njenih rezultata, u Protokolu kliničkog trajala se navodi ukupan plan analize, sve metode i svi potencijalni pristupi ili korekcije koje mogu biti nametnute nekim okolnostima.

Tako deo Protokola koji se odnosi na statističku analizu treba da sadrži:

- precizirane hipoteze koje treba testirati (preciziran način procene efekata lečenja),
- opisane statističke metode za analizu primarne varijable
- opisane statističke metode za analizu sekundarne varijable
- opisanu metodologiju dobijanja odgovarajućih intervala poverenja koji se prikazuju uz procene efekata terapije
- opisane planirane/predviđene metode za poboljšanje preciznosti osnovnih podataka ili usklađivanje potencijalnih inicijalnih (baznih) razlika (napr. analiza kovarijanse, transformacije podataka)
- opisane alternativne pristupe ili procese - u slučaju onemogućenog, nejsanog ili neodgovarajućeg testiranja uslovленog neplaniranim ili neočekivanim kvalitetom podataka (nedostajući podaci, pacijenti izgubljeni iz praćenja, ekstremne vrednosti)
- precizirane specifične ili posebne statističke metode ili modele; precizirane testove (jednostrane/dvostrane, parametarske/neparametarske) itd.

U Protokolu istraživanja je potrebno definisati sve veličine kojima se ispituje efekat (primarne i sekundarne varijable) i koji će se statistički analizirati, definisati način modifikovanja (ako postoji) nekog seta podataka za potrebe dobijanja preliminarnih/konačnih rezultata, definisati izbor testova

(osnovni i alternativni) za statističke procene efekata lečenja zajedno sa intervalima poverenja (napr. spisak parametarskih i alternativnih neparametarskih) i sl.

U Protokolu istraživanja takođe treba da bude opisan pristup, prikaz i evaluacija ostalih varijabli; način integrisanja/modeliranja informacija o poznatim farmakološkim svojstvima; stepen usklađenosti protokola sa pojedinim subjektima; pristup drugim biološkim parametrima koji mogu da pruže dragocene informacije (napr. indirektna procena stvarnog ili potencijalnog efekata tretmana); prepostavke na kojima se zasnivaju modeli treba jasno identifikovati, a ograničenja i zaključke pažljivo opisati.

Usled raznih mnogostrukosti - više primarnih varijabli, više tretmana koji se porede, ponavljanje merenja iste variable tokom vremena, više podgrupa od značaja, višestrukost statističkih testova - tokom statističke analize može doći do tzv. *inflacije greške I vrste* a što je neophodno izbeći, recimo korekcijom granice statističke značajnosti. Favorizuju se, ukoliko je to moguće, metode izbegavanja ili redukcije mnogostrukosti:

- u slučaju više primarnih varijabli identifikacijom *ključa*<sup>67</sup>,
- u slučaju višestrukih komparacija izborom *kriticne razlike*<sup>68</sup>,
- kod ponovljenih merenja upotreboom *zajedničke mere*<sup>69</sup> itd.

O problemu višestrukosti se više govori u segmentu 7.5.*Problem višestrukih testiranja - inflacija greške I vrste*.

U Protokolu istraživanja se obavezno navode svi načini izbegavanja ili redukcije mnogostrukosti (tj. svi detalji metodologije koja će se u tu svrhu primeniti) ili se navode objašnjenja zašto nema potrebe za takvim pristupom. U potvrđnim analizama (eng. *confirmatory analyses*), svi aspekti višestrukosti koji ostaju nakon predloženih koraka, moraju da budu navedeni u Protokolu kao i načini njihove evaluacije.

Primarna varijabla (variable) je često sistematski povezana sa drugim karakteristikama (kovarijablama) nezavisnim od tretmana (poput pola, starosti, razlike između specifičnih podgrupa - različiti centri, podneblja, navike u ishrani, i sl.). U nekim slučajevima, uticaj kovarijabli ili efekata podgrupa predstavljaju sastavni deo planirane analize. Tada, kao takve, moraju da budu navedene u Protokolu obzirom da informacije o njima počivaju na prestudijskim razmatranjima koja treba da:

- identifikuju kovarijable i faktore koji će imati značajan uticaj na primarnu varijablu (variable),
- razmotre i objasne kako koristiti takve faktore u analizi (najbolje bez ugrožavanja preciznost ili ravnoteže između grupa),
- kako obezbediti nadoknadu za bilo kakav nedostatak ravnoteže između tretmanskih grupa i sl.

Dalje, kredibilitet numeričkih rezultata analize zavisi od kvaliteta i validnosti (ispravnosti) metoda i softvera za upravljanje podacima (eng. *Data Management* koji obuhvata unos, čuvanje, verifikaciju, korekciju, pronalaženje podataka) kao i kvaliteta i validnosti (ispravnosti) metoda i softvera za statističku analizu podataka. Neophodno je da softveri koji se koriste za upravljanje podacima i statističku analizu budu pouzdani (licencirani) a odgovarajuća dokumentacija za softvere (licence) mora biti dostupna.

---

<sup>67</sup>Na primer, stepen depresivnosti ili anksioznosti ispitanika se procenjuje tzv. ukupnim skorom dobijenim primenom precizne formule nad odgovorima datim na tačno određena pitanja neke ankete.

<sup>68</sup>Na primer komparacija vrednosti iz I i VI merenja.

<sup>69</sup>Na primer, kod ponovljenih merenja se često koristi površina ispod krive (eng. AUC - *Area under the curve*) koju formiraju vrednosti dobijene iz svih predviđenih momenata merenja.

## 4. STATISTIKA U FAZI REALIZACIJE

U fazi realizacije istraživanja vrše se opservacije i/ili merenja predviđena planom istraživanja. U ovoj fazi se prikupljaju podaci, unose u elektronske baze podataka, čuvaju, kontrolišu i koriguju kako bi se pripremili za statističku analizu.

U fazi planiranja istraživanja, treba favorizovati varijable čije su vrednosti merljive preciznim mernim skalamama, a u fazi realizacije istraživanja treba voditi računa o preciznosti mernih instrumenata, njihovoj usaglašenosti (kada ih ima više) i obučenosti kadra koji vrši merenje. Kada se koriste kvalitativne varijable, treba favorizovati standardne šifarnike kada god je to moguće (opšte stanje bolesnika izraženo kroz ECOG Performans status: 0,1,2,3,4; Gradusi toksičnosti: G0, G1, G2, G3, G4).

Kada se koriste ankete, precizno predvideti ili definisati moguće odgovore.

### 4.1. Prikupljanje i čuvanje podataka. Elektronske baze podataka [15,16].

Podaci o kliničkim istraživanjima se čuvaju u posebnim papirnim i/ili elektronskim dokumentima. *Test-listama*<sup>70</sup> (eng. *CRF-Case Report Form*), medicinskim računarskim sistemima ili daljinskim sistemima za monitoring (*WEB baze*).

Da bi se omogućila statistička analiza primenom računarskih programa, svi podaci moraju biti zabeleženi u tzv. *Elektronskim bazama podataka* gde se podaci čuvaju u posebno šifriranoj formi.

Variable						
	red br	br ist	ime	pol	star	dg
1.	😊	•	•	•	•	•
2.	😊	•	•	•	•	•
3.	😊	•	•	•	•	•
4.	😊	•	•	•	•	•
:	:	:	:	:	:	:
N	😊	•	•	•	•	•

Elektronska baza podataka predstavlja elektronsku matricu podataka. Obično su u prvoj vrsti nazivi varijabli, a u prvoj koloni redni brojevi ili identifikacione šifre svih subjekata istraživanja. U ostalim kolonama se nalaze uzoračke vrednosti specificiranih varijabli dok se u ostalim vrstama nalaze uzoračke vrednosti svih varijabli razvrstane po subjektima istraživanja (Slika 38.).

Slika 38. Elektronska baza

Elektronski, matrični zapis podataka nije uvek upotrebljiv za statističku analizu. Naime, forma slobodnog teksta, neorganizovanost podataka (preskakanje redova, kolona), nejedinstvenost zapisa (kombinacija brojeva i teksta; različite oznake za isti podatak: nema, 0, -), veliki broj praznih polja i sl. otežavaju kontrolu i statističku analizu, a nekada je i onemogućavaju. Zato se preporučuje da se uzorački podaci zapisuju u namenskim računarskim aplikacijama (Excel, Access, druge forme korisničkih baza poput SPSS-ovog dokumenta) i to u šifrovanoj (kodiranoj) formi.

Šifriranje (kodiranje) podrazumeva jednoznačno prevođenje:

- naziva varijabli u određene karakterne vrednosti
- opserviranih vrednosti varijabli (podataka) u određene numeričke ili karakterne vrednosti uz preporuku favorizovanja numeričkog zapisa gde god i kada god je to moguće (Tabela 4.).

<sup>70</sup> **Test lista** (eng. *CRF-Case Report Form*) je papirni i/ili elektronski upitnik namenjen prikupljanju i čuvanju svih relevantnih podataka o stanju pacijenta i oboljenja koji se prate i beleže tokom realizacije prospективnog kliničkog istraživanja, uključujući i blaže neželjene događaje. Ozbiljni neželjeni događaji se posebno zapisuju u specijalnom dokumentu. Svaki pacijent u istraživanju ima svoju Test listu.

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Tabela 4. Primer šifarnika

Varijabla	Znacenje	Vrednosti
<b>rbr</b>	redni broj pacijenta u bazi	Broj
<b>brib</b>	Broj istorije bolesti	Tekst
<b>ime</b>	Ime i prezime	Tekst
<b>mat.broj</b>	Maticni broj	Tekst
<b>dat.rodj</b>	Datum rodjenja	Datum (forma: dd.mm.gggg)
<b>star</b>	Starost (u godinama)	Proračun (dat.hir-dat.rodj)/365
<b>star.cat</b>	Starost – kategorije	Kategorisanje starosti: 35: star≤35 45: 35<star≤45 55: 45<star≤55 56: star>55
<b>tnm.t</b>	T u TNM klasifikaciji	0-T0 1.1-T1a, 1.2-T1b, 1.3-T1c 2-T2 3-T3 4-T4
<b>tnm.n</b>	N u TNM klasifikaciji	0-N0, 1-N1
<b>tnm.m</b>	M u TNM klasifikaciji	0-M0, 1-M1
<b>dat.hir</b>	Datum hirurgije	Datum (forma: dd.mm.gggg)
<b>hir.vrsta</b>	Vrsta operacije	1-biopsija 2-kvart 3-mastektomija 4-mastektomija sa rekonstrukcijom <i>zdruzene vrste pisati u formi: 13</i>
<b>dat.pk</b>	Datum poslednje kontrole	Datum (forma: dd.mm.gggg)
<b>dat.lok.rec</b>	Datum pojave lokalnog recidiva	Datum (forma: dd.mm.gggg)
<b>dat.meta</b>	Datum pojave meta	Datum (forma: dd.mm.gggg)
<b>dat.ex</b>	Datum egzitusa	Datum (forma: dd.mm.gggg)
<b>razlog.ex</b>	Razlog egzitusa	1-osnovna bolest, 2-drugo
<b>razlog.ex.txt</b>	Razlog egzitusa tekst	Tekst
<b>os</b>	Ukupno prezivljavanje (u mesecima)	Proračun za žive: (dat.pk-dat.hir)/365 za egzituse: (dat.ex-dat.hir)/365
<b>os.st</b>	Status za ukupno prezivljavanje	0-živa 1-egzitus
<b>do.rel</b>	Vreme do pojave relapsa (u mesecima)	Proračun - sa lok.rec ili meta: (min(dat.lok.rec;dat.meta)-dat.hir)/30 - bez lok.rec ili meta: (dat.pk-dat.hir)/30
<b>do.rel.st</b>	Status za vreme do pojave relapse	1-za bolesnice sa lok.rec ili meta 0-za bolesnice bez lok.rec ili meta

Prilikom šifriranja treba se pridržavati sledećih pravila:

- favorizovati numeričke oznake
- organizovati varijable po hronološkom i logičkom sledu
- koristiti isti tip zapisa za sve vrednosti jedne varijable (napr. sve datume zapisivati u formi dd.mm.gggg; za sve vrednosti neprekidne varijable koristi zapis 0.\*\*\* sa 3 decimale)
- precizno definisati sve moguće vrednosti varijable (*nema-0, podatak-broj, nepoznato-999*)
- koristiti različite vrednosti zapisa za NEMA (temperaturu, ishod) i NEPOZNATO (nema uopšte podatak o temperaturi, ishodu)
- koristiti slične oznake za ponovljena merenja (temp.1, temp.2, temp.3)
- ne ostavljati prazna polja u bazi
- favorizovati zapis svih podataka u jednoj bazi, a za podgrupe ili svojstva uvesti indikatore
- favorizovati originalan zapis numeričkih i datumskih podataka (bez nepotrebnih proračuna i bez nepotrebne gradacije)
- ne koristiti jednu varijablu za zapis većeg broja svojstava.

## 4.2. Priprema podataka za statističku analizu

Razne greške ili nedostaci koji nastaju prilikom realizacije istraživanja<sup>71</sup>, prilikom zapisivanja podataka (neprecizni formulari, nejasni odgovori, nedovoljno obučen kadar), prilikom unosa podataka u elektronske baze (slučajne greške, lapsusi, zamena pozicija numeričkim ili datumskim vrednostima) mogu značajno uticati na statističku analizu, nekada je čak i onemogućiti ili rezultirati potpuno pogrešnim rezultatima, a samim tim i zaključcima.

Zato je neophodno podatke proveriti i ispraviti koliko god je to moguće kako bi se uklonile poteškoće prilikom statističke analize.

➤ **Provera podataka** (eng. *Data Checking*):

Ova akcija obuhvata potragu za raznim omaškama, tipografskim i slučajnim greškama koje uglavnom nastaju prilikom unosa podataka u elektronske baze. Kod studija većih, obično se organizuje tzv. *dupli unos podataka* nakon čega se vrši provera usaglašenosti unetih vrednosti.

Kod vrednosti kategorijih varijabli, proverava se definisan opseg numeričkih oznaka (kodova, šifara) za postojeće kategorije varijable. Sve numeričke vrednosti van definisanog opsega predstavljaju grešku<sup>72</sup>.

Kod vrednosti kontinuirane varijable proverava se opseg mogućih vrednosti, najčešće pomoću donje i gornje granice<sup>73</sup>. Često se dešava da decimalni zapis brojeva bude pogrešan.

Česte su greške u zapisu datuma (nepostojeći datumi: 30.02. ili 31.09.). Mnogi kompjuterski programi zapis 12.10.2010. (tačka iza godine) ne prepoznavaju kao datum već kao tekst. Proverava se redosled datuma (datum dijagnoze bolesti<datum operacije<datum poslednje kontrole), sve vrednosti nastale operacijama nad datumima<sup>74</sup> kao i opseg takvih vrednosti.

U nekim računarskim programima nema razlike između broja 0 i praznog polja (blanko ćelija, nedostajući podatak) te se preporučuje kodiranje nedostajućih vrednosti.

---

<sup>71</sup>Slučajne greške u merenju, greške nastale usled različite preciznosti mernih skala ili uređaja; različite obučenosti kadra; nesaradnje subjekata; nemogućnosti merenja kod bolesnika koji su napustili studiju i sl.

<sup>72</sup>Ako su krvne grupe kodirane sa 1-O, 2-A, 3-B, 4-AB, tada je vrednost 5 ili 6 greška u zapisu.

<sup>73</sup>Ako je uslov za učešće u studiji da osoba nije anemična tj. da su vrednosti hemoglobina za žene u rasponu od 119-157 g/l a za muškarce od 138 - 175 g/l, tada je vrednost hemoglobina 19 ili 911 greška u zapisu.

<sup>74</sup>Recimo, starost bolesnika (u godinama) dobija se proračunom: (datum intervencije - datuma rođenja)/365 i ne može biti negativna.

**Logička kontrola** je prilično kompleksan proces jer zahteva povezivanje više varijabli i ispitivanje združenih uslova<sup>75</sup>. Za ovaj proces je teško dati detaljne smernice.

➤ **Ekstremne vrednosti** (eng. *Outliers*):

Nisu retka pojave i obično se javljaju 1-2 takve vrednosti za bar jednu numeričku varijablu. Ekstremne vrednosti treba pažljivo proveriti pa ako su zaista ispravno zabeležene (verodostojne su), nema razloga da budu izmenjene. Potreba da budu izbačene ili isključene iz analize je diskutabilna, obzirom da ničim nije opravданo isključiti neke vrednosti samo zato što su previsoke ili preniske. Sa druge strane, njihov uticaj na rezultate statističke analize može biti značajan (povećanje prosečne vrednosti i standardne devijacije koje su senzitivne na ekstreme). U takvim situacijama se obično vrši **logaritamska transformacija podataka**, kojom se ekstremne vrednosti ublažavaju.

Ekstremne vrednosti povećavaju varijansu i na taj način mogu da sakriju, prikriju, zamagle stvarni efekat. Takođe utiču i na regresionu analizu, pogotovo linearну, gde se položaj linije tj. modela veze može značajno promeniti pod uticajem ekstrema, pogotovo kod uzoraka malog obima.

Zbog svega navedenog, u situacijama kada postoje ekstremi, preporučuje se sprovođenje duple analize - sa i bez ekstremnih vrednosti uz obavezno upoređivanje dobijenih rezultata. Ako dobijena razlika nije velika, to znači da je uticaj ekstremnih vrednosti mali. Ali ukoliko je razlika velika, tada se preporučuje upotreba drugih statističkih metoda kojima se umanjuje efekat ekstrema.

➤ **Nedostajući podaci** (eng. *Missing Values*):

Oni najčešće nastaju usled nepostjećeg<sup>76</sup> merenja. Kod elektronskih indikatorskih polja (napr. prisustvo bola: da-popunjeno, ne-prazno), ukoliko ono nije popunjeno, podrazumeva se negativna vrednost. Ovo obično nije zabrinjavajuća greška u prospektivnim studijama jer nepotpunjeno polje obično i podrazumeva negativnu vrednost. Ali u retrospektivnim studijama mogu nastati ozbiljne greške podrazumevanjem negacije umesto zaista nedostajuće vrednosti.

Datumska vrednost takođe može imati nedostajući podatak. Ako nedostaje dan u datumu, preporučuje se 15. (sredina meseca), a ako nedostaje mesec, preporučuje se 6. ili 7. mesec (sredina godine).

U elektronskim zapisima podataka, nedostajuća vrednost se često kodira nekim ekstremno velikim brojem (9999) koji realno ne može da predstavlja ni jednu uzoračku vrednost bilo koje varijable. Ali to pravilo ne treba zaboraviti prilikom generisanja novih varijabli na osnovu postojećih (indeks telesne mase BMI se dobija pomoću telesne težine i telesne visine) jer se omaškom, vrednost može dodeliti i tamo gde postoji nedostajući podatak. Zato je bolje koristiti karakterne oznake (\* ili NA) ukoliko tako nešto dozvoljava statistički paket. U suprotnom, pre početka statističke analize ali i pre generisanja ostalih varijabli, treba u statističkom programu identifikovati izabrano numeričku vrednost kao nedostajuću.

➤ **Skrining podataka** (eng. *Data Screening*):

Podrazumeva niz akcija koje su usmerene ka proveri karakteristika podataka i njihovoj saglasnosti sa uslovima neophodnim za primenu predviđene statističke metodologije.

Saglasnosti uzoračke raspodele sa normalnom jeste preduslov mnogih statističkih metoda (parametarski testovi). Postoje dva osnovna načina procene normalnosti - grafički i numerički. Statistički testovi za procenu normalnosti raspodele imaju prednost jer se njima vrši objektivna procena. Međutim, ovakvi testovi nisu preterano osetljivi kod ekstremnih obima uzoraka – previše malih ili previše velikih.

---

<sup>75</sup>Vrednosti hemoglobina nakon tretmana suplementima gvoždja bi trebalo da bude veće ili bar jednake početnim vrednostima hemoglobina pre terapije. Zato manje vrednosti treba proveriti.

<sup>76</sup>Pacijent nije došao na kontrolu ili nije odgovorio na određeno pitanje ili je izgubljen, uništen njegov uzorak krvi; nije izvršeno merenje jer je pacijent napustio studiju ili je izgubljen iz praćenja; nije bilo reagenasa u nekom periodu sl.

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Grafičke metode omogućavaju subjektivan sud o normalnosti podataka i pogodnije su u situacijama jako malih ili jako velikih obima uzoraka kada su statistički testovi obično nepouzdani.

Od grafičkih metoda su najčešće u upotrebi *Histogram* (frekvencija ili kumulativnih frekvencija) i *Normal Q-Q Plots*.

U slučaju neiskustva u tumačenju normalnosti korišćenjem grafičkih prikaza, pouzdanije je oslanjanje na numeričke metode tj. statističke testove. Testovi koji se najčešće upotrebljavaju za ispitivanje normalnosti jesu *Kolmogorov-Smirnov Test* i *Shapiro-Wilk Test*. Shapiro-Wilk Test je mnogo pogodniji za uzorce manjih obima ( $N < 50$ ) ali je senzitivan na uticaje ekstremnih vrednosti. Kolmogorov-Smirnov test je generalno manje moći, u smislu ređeg ispravnog odbacivanja nulte hipoteze o normalnosti.

Najbolje je kombinovati neku od grafičkih metoda i Shapiro-Wilk test.

➤ **Transformacije podataka** (eng. *Data Transforming*):

Najčešće se sprovode radi obezbeđivanja saglasnosti podataka sa normalnom raspodelom. U tu svrhu se koristi obično *logaritmovanje* (najčešće prirodni logaritam), *recipročna vrednost* i sl.

Transformacija proporcija se vrši pomoću tzv. *logit transformacije*:

$$\text{logit}(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right)$$

i koristi se u regresionoj analizi koja uključuje proporcije kao i pri upotrebi *ODDS količnika* (eng. *ODDS Ratios*) u cilju komparacije rizika između različitih grupa.

Dalje, transformacije podataka mogu biti deo standardne metodologije *anketa* (napr. procena ukupne kognitivne funkcije na osnovu niza odgovora na tačno određena pitanja) ili deo metodologije predviđene Protokolom istraživanja (napr. površina ispod krive kod ponovljenih merenja kako bi se izbegla višestrukost testiranja).

## 5. STATISTIKA U FAZI ANALIZE PODATAKA

O statistici u fazi analize podataka istraživanja se najviše zna. Od ove faze je počela primena statistike u biomedicini, ali se na žalost, često još uvek tu i završava. Umesto usvajanja naučnog metoda i opštег koncepta statističkog rasuđivanja i zaključivanja - kao najboljeg pristupa istraživanju u svakoj njegovoj fazi, akcenat se uglavnom stavlja samo na statističke tehnike.

Redovni edukativni programi za stručnjake biomedicine obično obuhvataju poduzi spisak statističkih metoda, veoma detaljno objašnjenih i sistematicno izloženih u knjigama, skriptama i drugoj literaturi. Sa druge strane, toliko insistiranje na detaljnem poznavanju statističkih tehnika i matematičkim formulama koje su u pozadini statističkih testova, obično predstavlja problem većini stručnjaka biomedicine, tim pre što su one integrisane u većinu lako dostupnih računarskih programa namenjenih statističkoj analizi.

Ali svođenje statistike na spisak testova, metoda i algoritama za njihovu upotrebu kao i brojni statistički programi - jednostavnvi čak i za laičku upotrebu, često stvaraju sliku jednostavnosti i trivijalnosti kako statističkih tehnika, tako i statistike kao nauke. U prilog tome govore i brojni udžbenici o statističkoj metodologiji napisani od strane nestatističara ili nematematičara [5].

*Statistics is difficult subject to learn from books, but it is made even more so because many introductory books in statistics are written by people whose understanding of the subject is slight (see Blind and Altman (1987,1988). The autors of introductory texts in statistics, whether medical, geographical or ornithorogical, are often, indeed predominantly, neither qualified nor expert in the subject. Futhermore, this is presented as a positive advantage. The autor is claimed to be able to communicate the subject to the medical reader, not because of expertise in statistics but because of a common medical background. As Healy (1979) has written, in a much quoted passage: 'I do not know a single discipline other than statistics in which it is a positive recommendation for a new text book, worthy of being quoted on the dust cover, that it is not written by a specialist in the appropriate field. Would any medical reader read, would any medical publisher publish, my new introduction to brain surgery – so much simpler and more clearly written than those by professional brain surgeons, with their confusing mass of detail? I trust not!' In context this is a criticisam of statisticians for their failure to write text-books which meet doctors' needs, but the books which fill the gap fail to meet these needs too! [5; str. 233]*

U fokusu ovog rada jesu specifičnosti primena statistike u kliničkim istraživanjima sa akcentom na usvajanju i primeni opštег koncepta statističkog rasuđivanja i zaključivanja u oblasti biomedičkih istraživanja. Uz to, kako je većina statističkih tehnika poznata i statističarima i nestatističarima, to se statistička metodologija vezana za analizu podataka neće detaljno objašnjavati. Shodno tome, ovo poglavlje sadrži samo neke preporuke, primere i smernice kako (na intuitivnom nivou) približiti nematematičarima neke važne detalje vezane za statističke tehnike i njihovu primenu u fazi analize podataka.

Ovakav pristup ima za cilj ukupno smanjenje grešaka u istraživanju ali i bolju komunikaciju i saradnju statističara i stručnjaka biomedicine.

## ➤ FAZA STATISTIČKE ANALIZE PODATAKA<sup>77</sup>

Kao što je poznato, u fazi statističke analize podataka dobijenih realizacijom istraživanja, razlikuju se dve glavne kategorije statističkih procedura: deskriptivna statistika i analitička (inferencijalna) statistika.

- **Deskriptivna statistika** (eng. *Descriptive statistics*)

Dobijena serija podataka, u svom izvornom obliku obično je veoma velika i nepregledna te nije od velike pomoći u donošenju zaključaka ili odluka. Takve serije podataka treba sažeti, organizovati, opisati i prikazati pomoću tabela, grafikona ili izračunavanjem odgovarajućih sumarnih pokazatelja (procenti, proseci). Deo statistike koji omogućava ovakvu vrstu statističke analize naziva se *deskriptivnom statistikom*.

- **Analitička (inferencijalna) statistika** (eng. *Inferential Statistics*)

Veći deo statističkih tehniki koje se primenjuju nad uzoračkim podacima ipak se odnose na donošenje odluka, predviđanje i prognozu o osnovnom skupu (populaciji). Deo statistike koji to omogućava naziva se *inferencijalnom (analitičkom) statistikom*.

Metode inferencijalne statistike obuhvataju statističke testove, metode kojima se ispituju veze između varijabli od interesa (razne korelacije, saglasnost, regresiona analiza), metode analize preživljavanja (eng. *Survival analysis*), itd.

### 5.1. Deskriptivna statistika

Stručnjacima biomedicine su poznate osnovne mere centralne tendencije i varijabiliteta.

#### ➤ *Mere centralne tendencije*

##### Mere centralne tendencije

###### **Uzoračka srednja vrednost**

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

###### **Uzoračka medijana**

$$Med = \begin{cases} \frac{x_k + x_{k+1}}{2}, & n=2 \cdot k \\ x_{k+1}, & n=2 \cdot k + 1 \end{cases}$$

Najpoznatije mere centralne tendencije su (Slika 39.):

- **uzoračka srednja vrednost** (eng. *Mean; Average*)
- **uzoračka medijana** (eng. *Median*)

U komunikaciji sa stručnjacima biomedicine treba naglasiti da uzoračkom srednjom vrednošću i uzoračkom medijanom nisu iscrpljene sve mere centralne tendencije kojima statistika raspolaže.

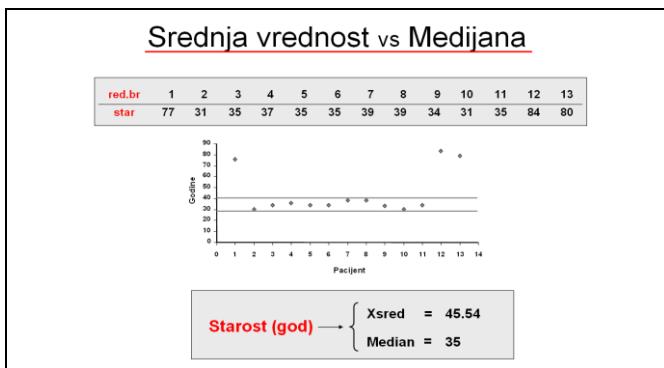
Ponekad između uzoračke srednje vrednosti i uzoračke medijane postoji velika razlika. Nematematičarima je često nejasno zašto se ona javlja.

Slika 39. Neke mere centralne tendencije

**Primer 15:** U jedno istraživanje je uključeno 13 bolesnika starosti 77, 31, 35, 37, 35, 35, 39, 39, 34, 31, 35, 84, 80 godina. Jednostavnim proračunom dobija se prosečna starost od 45.54 godina dok medijana starosti iznosi 35 godina. Treba primetiti da se ove dve vrednosti prilično razlikuju, čak za više od 10 godina. Koja od ovih mera bolje opisuje uzorak i zašto se javlja tolika razlika [16]?

Na slici 40. je tabelarno i grafički prikazana starost (u godinama) za 13 pacijenata kao i odgovarajuće mere centralne tendencije.

<sup>77</sup>U komunikaciji sa stručnjacima biomedicine treba uvek naglasiti da se za sve one istraživače-nematematičare koji žele samostalno da obavljaju statističku analizu, podrazumeva da će proučiti i usvojiti detalje statističkih tehniki i uslova za njihovu primenu kao i ovladati tumećenjem rezultata. U suprotnom, mogu se načiniti veoma ozbiljne greške - od pripreme podataka za analizu, odabira statističkih tehniki pa sve do izvedenih zaključaka.



Slika 40. Srednja vrednost vs Medijana

Sa grafičkog prikaza vidi se da starost većine pacijenata pripada intervalu od 30-40 godina te je medijanom dosta dobro procenjena starost većine subjekata iz uzorka.

Pomenuta razlika se javlja usled visoke senzitivnosti uzoračke srednje vrednost na ekstremne vrednosti uzorka. U navedenom primeru, to su godine starosti za prvog i poslednja dva pacijenta. ■

### ➤ Mere varijabiliteta

Mere varijabiliteta su mere rasipanja uzoračkih vrednosti. Osim za numerički opis, koriste se takođe za procenu nepoznatih parametara raspodele. Najpoznatije mere varijabiliteta su:

- **Opseg** (eng. *Rang*) -  $(\min\{x_1, x_2, \dots, x_n\} - \max\{x_1, x_2, \dots, x_n\})$  gde je  $n$  - obim uzorka
- **Disperzija, Varijansa** (eng. *Variance*) – mera odstupanja (devijacije) uzoračkih vrednosti od njihovog proseka. Navedena je formula korigovane uzoračke disperzije (pogodna za manje uzorke):

$$SD^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

Problem varijanse (disperzije) u biomedicini jesu njene jedinice mere koje se javljaju kao kvadratne<sup>78</sup> vrednosti osnovne mere. Zato se koristi pogodnija mera varijabiliteta - standardna devijacija.

- **Standardna devijacija** (eng. *Standard Deviation*) – prosečno rastojanje (devijacija) uzoračkih vrednosti od proseka<sup>79</sup>

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i)^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2 / n}{n-1}}$$

- **Centil ili Percentil** (eng. *Centiles, Percentiles*) – uzoračka vrednost (granica) ispod koje se u zadatom procentu javljaju uzoračke vrednosti

**Primer 16.** Za podatke date u primeru 15. (13 bolesnika starosti 77, 31, 35, 37, 35, 35, 39, 39, 34, 31, 35, 84, 80 godina) odrediti opseg, standardnu devijaciju i 25-ti centil, 50-ti centil i 75-ti centil.

Na osnovu uzoračkih vrednosti lako se određuje opseg: 31-84 godina. Primenom formule dobija se vrednost standardne devijacije:  $SD=20.03$  god. Za određivanje vrednosti centila, potrebno je sortirati uzoračke vrednosti starosti pacijenata i odrediti njihove apsolutne, relativne i kumulativne frekvencije (Tabela 5.).

<sup>78</sup>Na primer, ako je potrebno odrediti uzoračku disperziju krvnog pritiska čija je jedinica  $mm\text{ Hg}$  (milimetri živinog stuba), tada će disperzija biti izražena u  $(mm\text{ HG})^2$  što je u biomedicini teško tumačiti.

<sup>79</sup> Standard deviation is not a good name for this statistic as there is nothing ‘standard’ about it. It may more reasonably be thought of as approximately the average deviation (or distance) of the observations from the mean. - Altman DG [26; str.35]

Tabela 5. Apsolutne, relativne i kumulativne frekvencije starosti pacijenata

Redni broj	Starost (gdine)	Frekvencija	Relativna frekvencija (%)	Kumulativna frekvencija	Kum. rel. frekvencija (%)
1.	31	1	7,69%	1	7,69%
2.	31	1	7,69%	2	15,38%
3.	34	1	7,69%	3	23,08%
4.	35	1	7,69%	4	30,77%
5.	35	1	7,69%	5	38,46%
6.	35	1	7,69%	6	46,15%
7.	35	1	7,69%	7	53,85%
8.	37	1	7,69%	8	61,54%
9.	39	1	7,69%	9	69,23%
10.	39	1	7,69%	10	76,92%
11.	77	1	7,69%	11	84,62%
12.	80	1	7,69%	12	92,31%
13.	84	1	7,69%	13	100%
<b>Ukupno</b>	-	<b>13</b>	<b>100%</b>	-	-

Posmatraju se u vrednosti u poslednjoj koloni Tabele 7. (kumulativne relativne frekvencije u %) i traže zadate vrednosti centila.

- ✓ **25-ti centil** (vrednost ispod koje se nalazi 25% uzoračkih vrednosti): 25% se nalazi između 23.08% i 30.77% a njima odgovaraju vrednosti starosti 34 i 35 god. Interpolacijom se dobija  $34+0.75*(35-34)=34.75$  god (plavi redovi)
- ✓ **50-ti centil** (vrednost ispod koje se nalazi 50% uzoračkih vrednosti): 50% se nalazi između 46.15% i 53.85% a njima odgovaraju vrednosti starosti 35 i 35 god. Interpolacijom se dobija  $35+0.5*(35-35)=35$  god (crveni redovi)
- ✓ **75-ti centil** (vrednost ispod koje se nalazi 75% uzoračkih vrednosti): 75% se nalazi između 69.23% i 76.92% a njima odgovaraju vrednosti starosti 39 i 39 god. Interpolacijom se dobija  $39+0.25*(39-39)=39$  god (zeleni redovi).■

Treba primetiti da je 50-ti centil ustvari medijana starosti. I ostala dva centila imaju svoje značenje. Naime, 25-ti, 50-ti i 75-ti centil se zovu *kvartili* (eng. *Quartiles*) zato što dele opseg uzoračkih vrednosti na četvrtine. Opseg između 25-tog i 75-tog centila se zove *interkvaritlni opseg* (eng. *Inter-quartile rang*). Kvantili se koriste u grafičkom prikazu numeričkih varijabli (tzv. eng. *Box-and-Whisker Plot*).

#### ➤ Procena parametara raspodele

U komunikaciji sa nematematičarima uvek treba naglasiti da mere deskriptivne statistike nisu namenjene samo deskripciji numeričkih uzoračkih podataka već imaju važnu ulogu u oceni parametara za potrebe klase statističkih metoda poznate kao parametarske.

Osnovni zadatak statističkog zaključivanja pomoću uzoraka se odnosi na procenjivanje nepoznatih parametara raspodele osnovnog skupa (populacije) i na kasnije ispitivanje pretpostavki (testiranje hipoteza) o tim parametrima.

**Tačkasta ocena** (procena brojnom vrednošću) se dobija korišćenjem uzoračkih podataka radi izračunavanja vrednosti koja predstavlja najbolju ocenu za nepoznati parametar populacije.

Od tačkastih ocena, za procenu nepoznatih parametara se najčešće koriste uzoračke mere centralne tendencije ili varijabiliteta (uzoračka srednja aritmetička sredina, uzoračka popravljena disperzija). Za procenu nepoznate verovatnoće (proporcije od interesa u celoj populaciji) koristi se obično relativna frekvencija.

**Intervalna ocena** (procena intervalom) se dobija korišćenjem uzoračkih podataka radi izračunavanja intervala mogućih i verovatnih vrednosti nekog nepoznatog parametra. Od intervalnih ocena, najčešće se koristi intervali poverenja (obično 95%).

U praksi se često koristiti obe vrste procene (i vrednost i interval) kako bi se doneli što korektniji zaključci o parametru neke populacije. Naime, kombinovanjem ove dve procene može se dobiti određeni stepen pouzdanosti da će stvarna vrednost parametra biti unutar dobijenog intervala, čak i u slučaju da uzoračka ocena parametra nije jednaka njegovoj stvarnoj vrednosti.

U tabeli 6. dati su primeri parametara i odgovarajućih statistika koji se obično koriste u praksi.

Tabela 6. Parametri i statistike

Parametar (u populaciji)	Statistika (u uzorku)
N: Broj elemenata populacije	n: Broj elemenata u uzorku
P: Proporcija u populaciji	p: Proporcija u uzorku
$\mu$ : Mat.očekivanje u populaciji	$\bar{x}$ : Uzoračka srednja vrednost
$\sigma$ : Standardna devijacija u populaciji	s: Uzoračka standardna devijacija
$\sigma_{\bar{x}}$ : Standardna devijacija za uzoračku srednju vrednost	SE $\bar{x}$ : Standardna greška za uzoračku srednju vrednost

## 5.2. Statistička analiza podataka

Pre svake statističke nalize treba **pogledati uzoračke podatke**. Bez obzira da li se radi o statističkim testovima koji su specificirani u fazi planiranja prospektivnih istraživanja ili se njihov izbor čini naknadno (kod retrospektivnih studija), uvek treba **PRE STATISTIČKE ANALIZE uraditi numerički opis i grafički prikaz uzoračkih podataka**.

I pored svih predostrožnosti koje se u fazi planiranja preduzimaju tokom procesa izbora testova, uzorački podaci mogu značajno odstupati od svih pretpostavki i očekivanja.

U prospektivnim istraživanjima, posebno kliničkim trajalima, takve situacije su obično predviđene i opisane u segmentu Protokola istraživanja koji se odnosi na statističku analizu. Ukoliko i pored toga dođe do neočekivanih odstupanja, reizbor testova i njihova opravданost moraju biti dokumentovani u amandmanima Protokola ili u tzv. *Završnom statističkom izveštaju*.

U retrospektivnim istraživanjima, izbor metoda je teško predvideti unapred pa se njihov izbor često vrši naknadno, u zavisnosti od karakteristika izabranih varijabli i njihovih uzoračkih vrednosti.

### 5.2.1. Izbor statističkog testa

Većina istraživačkih pitanja u biomedicini je usmerena ka ispitivanju razlika između dve ili više grupe bolesnika ili ispitanika. Time je nametnut najčešći statistički pristup biomedicinskim istraživanjima: analiza razlika koje mogu postojati između dve ili više grupa subjekata.

Ukoliko bi posmatrane razlike bile dovoljno velike, moglo bi se reći da u tom slučaju statistički testovi ne bi ni bili neophodni. Međutim, u slučaju umerenih ili malih razlika, uvek je ključno pitanje da li se one pojavljuju samo slučajno ili su ipak odraz neke zakonitosti.

Upravo zbog takvih situacija se i koriste statistički testovi jer su oni ustvari alati pomoću kojih se pravi razlika između rezultata koji se mogu ili ne mogu opravdati slučajnošću.

# Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa Dušica V. Gavrilović

Svi statistički testovi počivaju na istom principu - oni porede uzoračke podatke sa očekivanim vrednostima, baziranim na raspodeli uslovljenoj pretpostavljenom nultom hipotezom. Konačan rezultat takvog procesa jeste odluka<sup>80</sup> o nultoj hipotezi.

Sve različite korake tokom testiranja danas vrše računarski programi namenjeni statističkoj analizi. Međutim, izbor testova još uvek ne vrši računar već osoba koja analizu sprovodi. Zato je veoma važno znati koji testovi, pod kojim uslovima i u kojim situacijama se mogu koristiti.

Kod prospektivnih istraživanja, procedura izbora statističkih testova se vrši u fazi planiranja istraživanja jer se tako budući rezultati lišavaju pristrasnosti izbora testova. Međutim, kod mnogih retrospektivnih studija, izbor testova se često vrši neposredno pred fazu analize podataka.

Kada god se činio, izbor statističkih metoda nije jednostavan zadatak. Pored stalne pažnje usmerene ka minimiziranju varijabiliteta i eliminisanju pristrasnosti, pri izboru testova treba dodatno voditi računa o brojnim drugim karakteristikama. Neke od njih nameće sam dizajn istraživanja<sup>81</sup>, neke priroda problema<sup>82</sup> a neke sami podaci koji su, u fazi realizacije istraživanja, dobijeni nad uzorkom<sup>83</sup>.

Nema univerzalnog algoritma za sigurno korektan izbor testova ali postoje smernice za njihov uspešan izbor. To su svakako:

- dobro poznavanje osnovnih statističkih termina, principa, testova i uslova za njihovu primenu
- dobro poznavanje oblasti biomedicine u kojoj se istraživanje sprovodi
- razumevanje ciljeva kako istraživanja tako i statističke analize
- poznavanje dizajna istraživanja i karakteristika uzoračkih podataka<sup>84</sup>
- i naravno puno lične preciznosti i pažnje.

Čitav postupak izbora testa treba raščlaniti na dobro strukturirani proces (algoritam), kako bi se izbegle neke moguće greške. Shodno tome, treba razmotriti sledeća bitna svojstva od kojih značajno zavisi izbor testova:

- broj ispitivanih grupa (jedna grupa; komparacija 2 grupe; komparacija 3 ili više grupa)
- tip podataka (da li podaci potiču od varijable neprekidnog numeričkog tipa, diskretnog numeričkog tipa, nominalnog ili ordinalnog tipa)
- odnos ispitivanih grupa podataka (zavisne ili nezavisne grupe podataka)
- karakteristike uzoračke raspodele (parametarski ili neparametarski testovi)
- tip alternativne hipoteze (jednostrana ili dvostrana)

## ➤ *Izbor testova: parametarski i neparametarski testovi*

Stručnjacima biomedicine je poznato da se uzorački podaci mogu testirati upotrebom parametarskih ili neparametarskih testova. Izbor parametarskih testova (obično razne varijante t-testa) na malom uzorku predstavlja jednu od češćih grešaka u biomedicini, koja ukazuje da se dovoljno ne poznaju uslovi za primenu ove klase testova.

Zato treba naglasiti da se parametarske metode oslanjaju na teoriju verovatnoće u kojoj normalna raspodela ima centralnu ulogu. Dakle, parametarske metode su primenljive nad podacima koji su normalno raspodeljeni a njihova upotreba nameće ocenjivanje pojedinih parametara populacije pomoću uzoračkih vrednosti (Slika 41.).

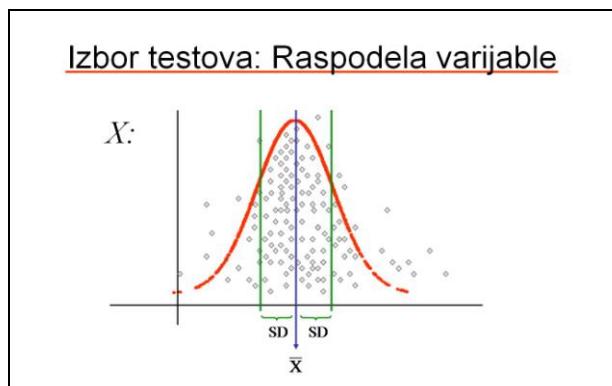
<sup>80</sup>Proces odlučivanja u statistici je opisan u poglavlju 2.2.2.*Hipoteza, statistički koncept odlučivanja i p-vrednost u biomedicini*

<sup>81</sup>Misli se na broj ispitivanih grupa, tip studije-eksperimentalna / opservaciona i sl.

<sup>82</sup>Na primer tip varijable-numerička/ordinalna/nominalna, zavisne / nezavisne varijable, i sl.

<sup>83</sup>Veliki broj nedostajućih, nepreciznih ili ekstremnih podataka i sl.

<sup>84</sup>Napr. prospektivo/retrospektivno, eksperimentalno/opservaciono istraživanje; komparativne grupe, njihov broj i odnos; obim uzorka; tipovi varijabli i podataka, njihova zavisnost / nezavisnost; itd



Uopšte, može se napomenuti da klasa statističkih procedura, u kojima se na osnovu uzoračkih vrednosti **vrši procena nepoznatih parametara populacije**, nose naziv **parametarske metode**. Upravo zbog takvog procesa procene koji obuhvata uzorak, uzoračku distribuciju i populaciju, svi uslovi<sup>85</sup> koji se zahtevaju za primenu parametarskih testova **moraju biti ispunjeni** jer su upravo oni zaduženi da sve komponente budu kompatibilne jedna sa drugom.

Slika 41. Raspodela bliska normalnoj

Drugačije rečeno, parametarske statističke procedure se oslanjaju na prepostavke o obliku raspodele u osnovnoj populaciji i na parametre takve distribucije.

Kada uzorački podaci nisu saglasni sa normalnom raspodelom, neparametarske procedure su jedno od mogućih rešenja (Slika 42.).



Pri tome, nije jednostavno definisati pojам **neparametarski**. Generalno je lakše navesti primere za svaki od tipova procedura (parametarskih i neparametarskih) nego definisati termin **neparametarski** sam za sebe. Međutim, zbog brojnih praktičnih razloga, **neparametarske statističke procedure** bi se mogle definisati kao **klasa statističkih procedura koje se ne oslanjaju na prepostavke o obliku ili formi funkcije raspodele verovatnoća u populacije** iz koje potiču uzorački podaci.

Slika 42. Raspodela različita od normalne

Zato se može reći da se neparametarske statističke procedure ili ne oslanjaju ni na jednu ili na svega nekoliko prepostavki o distribuciji populacije iz koje potiče uzorak.

Tada se sa pravom često postavlja pitanje: što se neparametarske procedure uvek ne koriste? Odgovor naravno nije jednostavan jer su neparametarske metode korisne u mnogim situacijama i neophodne u nekim, ali svakako nisu idealno rešenje za svako testiranje.

Sledećim sažetkom se pruža neka vrsta smernica za izbor između ovih klasa testova:

- Treba dobro znati koje prepostavke su neophodne za različite parametarske procedure kao i kako proveriti ispunjenost traženih prepostavki.
- Za istu veličinu uzorka, ukoliko su podaci zaista saglasni sa normalnom raspodelom, neparametarske metode generalno imaju manju moć od odgovarajućih parametarskih metoda.
- Ako podaci ne zadovoljavaju prepostavke koje zahtevaju parametarske metode, treba koristiti analogne neparametarske procedure jer upotreba parametarskih testova u takvim situacijama može rezultirati značajno pogrešnim zaključcima.
- Tumačenje rezultata neparametarskih procedura je teže nego kod parametarskih. Neparametarskim metodama se testira samo jednakost raspodela ali se ne dobijaju informacije

<sup>85</sup>Na primer, za primenu analize varijansi moraju biti ispunjeni sledeći uslovi: ispitivane grupe podataka moraju da budu **nezavisne**, da imaju **homogene varijanse** a uzorački podaci moraju da budu **saglasni sa normalnom raspodelom**.

o razlikama u srednjim vrednostima, varijansama ili obliku raspodele. Zato postoje preporuke da se, ukoliko obim uzorka i tip podataka to omogućavaju, podaci transformišu u cilju obezbeđivanja uslova za primenu parametarskih varijanti testova.

- Veoma mali broj softverskih aplikacija daje interval poverenja za neparametarske testove.
- Ako je uzorak malog obima, on nosi мало информација te ni jedna od ovih klasa statističkih procedura ne pruža pouzdane zaključke.

➤ **Izbor testova: tipovi podataka**

Jasno da od prirode podataka u biomedicini zavisi izbor statističkog testa. Koristeći terminologiju biomedicine, važi sledeće:

- Kvantitativni (numerički) podaci koji su saglasnosni sa normalnom raspodelom, dopuštaju primenu parametarskih testova<sup>86</sup>. Ukoliko svojstvo normalnosti nije ispunjeno, potrebno je transformacijama, ukoliko je moguće, usaglasiti uzoračke podatke sa normalnom raspodelom i primeniti parametarske testove. Ako to nije moguće, statistička analiza nad takvim podacima može se sprovesti jedino primenom neparametarskih testova.
- Od kvalitativnih podataka se retko može očekivati normalnost uzoračke raspodele<sup>87</sup>, te se nad njima obično sprovode neparametarske procedure.

➤ **Izbor testova: broj grupa podataka (1; 2; 3+)**

▪ Jedna grupa

Iako izgleda kao da nema smisla, ipak se može sprovesti barem neka statistička analiza čak i nad jednom grupom podataka. Moguće je testirati da li su uzoračka srednja vrednost, uzoračka mediana ili uzoračka proporcija saglasne sa određenom poznatom ili pretpostavljenom vrednošću

**Primer 17:** Bakterijski endotoksi se nalaze u Gram-negativnim bakterijama i oslobođaju se posle njihovog uginuća (uglavnom *Escherichia coli* Bergey) u gastrointestinalnom traktu. Zbog posledica koje po zdravlje čoveka može izazvati prisustvo bakterijskih endotoksina, vrši se ispitivanje njihovog prisustva kako u gotovim proizvodima, tako i u sirovinama, poluproizvodima i kontaktnoj ambalaži. Posebno je značajno ispitivanje prisustva bakterijskih endotoksina u vodi za injekcije što se čini ispitivanjem prisustva pirogenih materija *in vivo* na kunićima (*pirogeni test na kunićima*).

Ako se ubrizga voda za injekcije laboratorijskim kunićima uzorka, mogu se porebiti srednje vrednosti telesne temperature zabeležene tokom eksperimenta i dobro poznate standardne vrednosti telesne temperature za tu vrstu životinje. Na taj način se ispituje da li je razlika između vrednosti statistički značajna. Ako jeste, zaključak bi bio da voda za injekcije ima pirogenih materija. ■

▪ Dve grupe

Poređenje dve grupe podataka je najčešća forma primene statističkih testova u kliničkim istraživanjima. Neka pitanja se odnose na razlike u prosečnim vrednostima, a neka na razlike u frekvencijama (proporcijama) bitnih ishoda ili stanja.

To naravno nije sve jer su mnoga istraživanja organizovana tako da je potrebno ispitati da li postoje razlike između uzoračkih vrednosti izmerenih pre i posle izvesne intervencije.

Iz dosada navedenog se nazire da je pri ispitivanju razlika između dve grupe potrebno znati:

- kakav je tip podataka čije se razlike ispituju
- da li su uzoračke raspodele saglasne sa normalnom
- kakav je odnos ispitivanih grupa podataka (zavisne ili nezavisne).

<sup>86</sup> Naravno, ukoliko su, pored uslova normalnosti, ispunjeni i ostali uslovi za primenu izbrane parametarske metode.

<sup>87</sup> Osim podataka čiji je obim veliki i koji podležu Binomnoj ili Poasonovoj raspodeli.

■ Tri i više grupa

Poređenje više od dve grupe podataka je takođe često u biomedicini. Slično kao kod poređenja dve grupe podataka, i ovde je važno znati kakav je tip podataka, da li su uzoračke raspodele saglasne sa normalnom i da li su grupe zavisne ili ne.

Ali bez obzira na odnos grupa, njihovu prirodu ili izbor parametarskih ili neparametarskih testova, postoji nešto zajedničko za sve ovakve testove.

Naime, klasa testova koja se koristi za testiranje razlika između 3 ili više grupa pruža samo informaciju da li postoji ili ne statistički značajna razlika **između svih grupa**. Da bi se ispitalo kako se ponašaju razlike između svake dve grupe, potrebno je dodatno primeniti testove kojima će se **ispitati postojanje razlika između parova grupa**.

Primena recimo jednofaktorske ANOVE, omogućava testiranja parova pomoću tzv. *Post-hoc* testova koji su upravo toj svrsi i namenjeni.

Međutim, primenom neparametarske ANOVE (*Kruskal-Wallis* test ili *Fridman-ov* test), često nema namenskih testova za parove već se koriste odgovarajući neparametarski testovi namenjeni uobičajenom testiranju parova (*Mann-Whitney* za nezavisne odnosno *Wilcox sign rank test* za zavisne grupe).

U svakoj od ovih situacija dolazi do **umnožavanja broja testova nad istim setom podataka** što dovodi do tzv. *Inflacije greške I vrste*. Ovaj problem je detaljnije opisan u poglavlju *7.Neki problemi i greške u kliničkim istraživanjima*.

➤ **Izbor testova: nezavisne i zavisne grupe podataka**

Kada se ispituju dve ili više grupa podataka, jasno je da se za uzoračke vrednosti koje potiču od nezavisnih grupa subjekata koriste testovi za nezavisne uzorke. Slično, ako uzoračke vrednosti potiču od iste grupe subjekata, koriste se testovi za zavisne uzorke.

Navedena pravila **nisu univerzalna** jer postoje situacije kada se podaci dobijeni od istih subjekata smatraju nezavisnim<sup>88</sup>, odnosno kada se podaci dobijeni od različitih subjekata smatraju zavisnim<sup>89</sup>. Informacije o ovim svojstvima pruža istraživač biomedicine ili sam dizajn istraživanja.

➤ **Izbor testova: tip alternativne hipoteze**

Po rečima Altmana DG [26], primena jednostranih testova u biomedicini je retko prikladna. Naime, čak i kada postoje jaki razlozi da se očekuje razlika u tačno određenom smeru<sup>90</sup>, ne postoji nikakva garancija da će se to i desiti. Jer da postoji takva garancija, primećuje Altman, istraživanje ne bi ni bilo potrebno.

Ako dobijeni rezultati potvrde očekivanja<sup>91</sup> tada je upotreba jednostranog testa zaista prikladna i odgovarajuća, ali odluka o njegovom korišćenju mora biti doneta pre analize podataka [26]. Naime, **odлука o izboru jednostranog ili dvostranog testa mora biti nezavisna od stvarnih uzoračkih podataka jer bi, u suprotnom, predstavljala novi izvor pristrasnosti ili predrasuda** [26].

---

<sup>88</sup>Na primer kod Split-plot dizajna kliničkog trajala; neki primarni i sekundarni maligniteti kod iste osobe i sl.

<sup>89</sup>Recimo kada je svaki subjekat jedne grupe individualno usklađen /eng. *Individual Matching/* sa odgovarajućim subjektom druge grupe.

<sup>90</sup>Na primer, prilikom ispitivanja efikasnosti terapije suplementima gvožđa kod bolesnika sa anemijom, očekuje se porast vrednosti hemoglobina nakon terapije u odnosu na njegove inicijalne, početne vrednosti pre terapije.

<sup>91</sup>Recimo, izmerene vrednosti hemoglobina nakon terapije zaista jesu povećane u odnosu na njegove inicijalne, početne vrednosti pre terapije.

Najčešće p-vrednosti jednostranih testova koje se sreću u biomedicinskoj literaturi pripadaju intervalu 0.025-0.05 što ukazuje da isti rezultati ne bi bili statistički značajni da su korišćeni dvostrani testovi [26].

Jednostrani testovi se koriste pri komparaciji najviše dve grupe. Pri komparaciji tri ili više grupa podataka, koriste se isključivo dvostrani testovi.

### 5.2.2. Veze između varijabli

U biomedicinskim istraživanjima je često nepoznato da li su neke varijable uopšte povezane te se postavljuju sledeća istraživačka pitanja:

- Da li je nivo VGF faktora (eng. *Vascular Endothelial Growth Factor*) povezan sa vrednostima HbA1C<sup>92</sup>?
- Da li je nivo holesterola i triglicerida povezan sa BMI-indeksom<sup>93</sup> (eng. *Body Mass Index*)?
- Da li je ukupna dužina arterije thoracodorsalis povezana sa telesnom visinom? A sa telesnom površinom?
- Da li kod bolesnika sa kolorektalnim karcinomom vrednosti molekularnog markera p53 utiču na ishod lečenja? A na petogodišnje preživljavanje?
- Da li su nalazi tri patologa saglasni?

Statistika raspolaže čitavim spektrom metoda kojima se ispituje povezanost varijabli u smislu njenog postojanja, jačine ili modela veze.

#### ➤ **Koeficijenti korelacijske**

Korelacija je u biomedicini

- najčešće korišćen termin i u statističkom i u nestatističkom kontekstu
- sinonim za jednu od najčešćih korišćenih statističkih tehniki - koeficijent korelacijske
- jedan od najčešćih izvora grešaka - u smislu, primeni, tumačenju, zaključivanju

I pored obilja reči kojima se preciznije može iskazati namera, zaključak, u biostatistici je termin *korelacija* prisutan kako u svakodnevnom govoru tako i u statističkom kontekstu. Reč korelacija se koristi kao sinonim za testiranje razlika između grupa podataka, ispitivanje saglasnosti, ispitivanje koeficijenta korelacijske, regresionu analizu, interpretaciju značajnosti testa, zaključak, uzročnost i sl.

Zato u komunikaciji sa stručnjacima biomedicine treba pažljivo razmotriti šta se pod terminom *korelacija* zaista podrazumeva.

U statistici, koeficijent korelacijske predstavlja meru jačine i smera povezanosti dve varijable. Imma nekoliko specijalizovanih tehniki za različite tipove varijabli ali su svakako najpoznatiji parametarski Pirsonov i neparametarski Spirmanov koeficijent korelacijske.

#### ■ **Parametarski Pirsonov koeficijent korelacijske**

Nematematičarima ponekad treba naglasiti da je parametarski Pirsonov koeficijent korelacijske r (eng. *Pearson's product moment correlation coefficient*) statistički postupak za procenu mere i smera linearne povezanosti dve neprekidne numeričke varijable (Slika 43.).

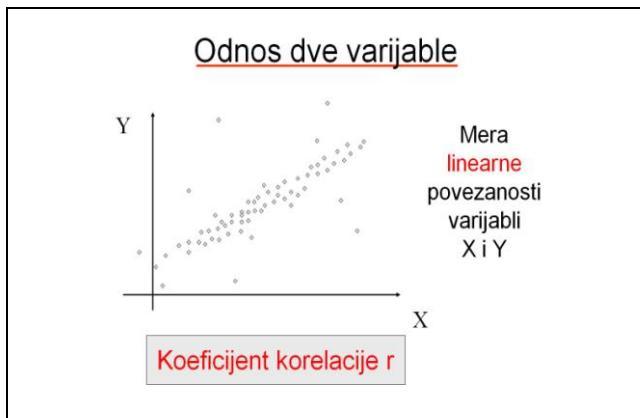
Naime, u biomedicini se često greši upotrebo ove metode:

- nad kvalitativnim podacima (arbitrarne numeričke vrednosti; čak indikator) bar jedne varijable

<sup>92</sup>HbA1C je oznaka za glikozilirani hemoglobin A1C koji pokazuje prosečnu vrednost šećera u krvi tokom poslednja 3 meseca. Važan je za kontrolu stanja obolelih od Dijabetes Melitus – šećerne bolesti.

<sup>93</sup>BMI-indeks služi za procenu gojaznosti, ima numeričke vrednosti (na bazi odnosa telesne težine i telesne visine) ili kategorije definisane kliničkim granicama (slabo uhranjena osoba, normalno uhranjena, gojazna, jako gojazna).

- nad diskretnim numeričkim podacima bar jedne varijable
- nad kategorijama neprekidnih numeričkih podataka bar jedne varijable
- nad varijablama koje su nelinearno povezane, itd.



Zato treba naglasiti da se pre upotrebe ove metode **pogledaju podaci** - preporučuje se grafički prikaz podataka u koordinatnoj ravni (eng. *Scatterplot*) (Slika 43.).

Kada su podaci međusobno povezani ali ne linerno, tada nema smisla izračunavati Pirsonov koeficijent korelaciije, iako njegova vrednost i tada postoji.

Slika 43. Koefficijent korelaciije

Takođe treba naglasiti da je veoma važno precizirati koja od varijabli je nezavisna, a koja zavisna, kao i da odnos zavisno/nezavisno nije simetričan. Pravilno usvajanje odnosa zavisnosti i nezavisnosti je veoma bitan, ne toliko zbog Pirsonovog koeficijenta korelaciije  $r$  – obzirom da se njegova vrednost ne menja promenom odnosa varijabli, koliko zbog regresione analize u kojoj je takva promena nedopustiva.

#### ▪ **Neparametarski Spearmanov koefficijent korelaciije**

Analog parametarskom koefficijentu korelaciije jeste neparametarski Spearmanov koefficijent korelaciije  $\rho$  (eng. *Spearman's correlation coefficient*). Ova metoda se koristi:

- ukoliko su vrednosti bar jedne od varijabli ordinalne
- kada raspodela podataka značajno odstupa od normalne
- kada postoje ekstremne vrednosti (eng. *outliers*)
- kod uzoraka malih obima ( $n < 35$ ).

Ne treba je koristiti kod nominalnih varijabli, pogotovo ne kod indikatora.

#### ▪ **Još neki koefficijenti korelaciije**

U praksi se često dešava da varijable nisu istog tipa, da su podaci kategorjni ili čak nominalni. Tada se koriste razne druge metode navedene u tabeli 7. u kojoj su prikazane smernice za izbor koefficijenata korelaciije u zavisnosti od prirode ispitivanih varijabli.

Tabela 7. Koefficijenti korelaciije za dve varijable

Variable Y\X	Quantitative X	Ordinal X	Nominal X
Quantitative Y	Pearson $r$	Biserial $r_b$	Point Biserial $r_{pb}$
Ordinal Y	Biserial $r_b$	Spearman rho/Tetrachoric $r_{tet}$	Rank Biserial $r_{rb}$
Nominal Y	Point Biserial $r_{pb}$	Rank Biserial $r_{rb}$	Phi, L, C, Lambda

(Preuzeto 08.12.2012. Dostupno na: <http://www.andrews.edu/~calkins/math/edrm611/edrm13.htm>)

Pored navedenih u tabeli 7., postoje i drugi koefficijenti korelaciije<sup>94</sup> ali o njima neće biti reči u ovom radu.

<sup>94</sup> Na primer *Intraclass correlation coefficient* kao i kasnije razvijeni *Distance correlation*, *Brownian covariance* itd.

## ➤ Regresiona analiza

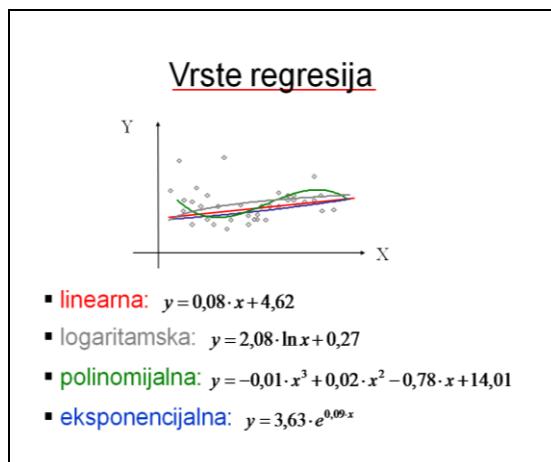
U multidisciplinarnim istraživanjima, poput kliničkih, komunikacija statističara i nematematičara može da bude otežana, pogotovo kada se raspravlja o kompleksnim statističkim metodama poput regresione analize. Intuitivno jasna objašnjenja i u takvoj situaciji mogu biti od koristi.

Naime, moglo bi se najopštije reći da *regresiona analiza* obuhvata skup statističkih metoda koje su usmerene ka ispitivanju veze i pronalaženju najboljeg modela povezanosti zavisne varijable sa jednom ili više nezavisnih varijabli. Opisuje se matematičkom funkcijom koja se naziva i *regresionom jednačinom*.

U regresionom modelu je veoma važno da se precizira koja varijabla je nezavisna, a koje su zavisne i taj odnos se ne može menjati. U suprotnom, može doći do veoma ozbiljnih grešaka.

Najpoznatija regresija je svakako *linearna regresija*<sup>95</sup> koja predstavlja *matematički model linearne povezanosti dve neprekidne numeričke varijable*.

Postoje različite vrste regresija. Mnoge od njih uključuju veći broj nezavisnih varijabli.



Iako regresionih modela ima koliko i matematičkih funkcija (446.) ipak se najčešće koristi linearna regresija ili regresije koje su svodljive na linearnu:

- *logistička regresija* (logaritamska funkcija)

$$g(x) = \ln \frac{\pi(x)}{1 - \pi(x)} = \beta_0 + \beta_1 x \text{ gde je } \pi(x) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 x}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 x}}$$

- *Koksova regresija u analizi preživljavanja* (eng. Cox Proportional-Hazards Regression for Survival Data) (eksponencijalna funkcija)

$$\lambda(t / X) = \lambda_0(t) \cdot e^{\beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n}$$

Slika 44. Regresione krive

Regresiona analiza je veoma kompleksan segment statistike i u ovom radu se neće dalje objašnjavati.

<sup>95</sup> U biomedicini se obično koristi za ilustraciju i podršku Pirsonovom koeficijentu korelacije.

## 6. STATISTIKA U FAZI PRIKAZA REZULTATA

U svakom istraživanju postoji potreba da se dobijeni podaci sumarno prikažu na jednostavan način. Nekada je to veoma daleko od pravca statističke analiza, ali svakako uvek predstavlja prvi korak.

### 6.1. Numerički opis i grafički prikaz podataka

Način sumarnog prikaza podataka zavisi od tipa varijable čije su oni uzoračke vrednosti.

Uz to, u oblasti biomedicine postoje veoma striktna pravila koja se odnose na numerički opis i grafički prikaz podataka [14] Neka od njih su obuhvaćena ovim radom.

#### 6.1.1. Kvalitativne (kategorne) varijable

Za kvalitativne varijable (pol, krvne grupe, terapijski modaliteti, težina oboljenja), svaka od njenih kategorija se numerički opisuje *učestalošću (frekvencijom)* i svojom *proncentualnom zastupljenosti*. Grafički prikaz frekvencija ili procentualne zastupljenosti kategorija se vrši tzv. *stubičastim grafikonima* (eng. *Bar chart*) ili *pitama* (eng. *Pie chart*).

**Primer 18.** Sprovedeno je istraživanje u stomatologiji sa ciljem ispitivanja efekata 3 različita anestetika:

- A1: Lidokain sa adrenalinom+Ropivakain 0.75%;
- A2: Lidokain sa adrenalinom;
- A3: Ropivakain 0.75%.

Uzorak je činilo 66 pacijenata (27 muškaraca i 39 žena) koji su lečeni oralnom hirurgijom. Svaki pacijent je pre intervencije dobio jedan od anestetika (22 pacijenta po grupi). Tokom intervencije, pacijentima je izvršeno uklanjanje kosti (kategorije uklanjanja kosti: 1-bukalno, 2-okluzalno, 3-distalno, 4-preparacijom retencionih mesta ili kombinacijom navedenih načina) sledećom učestalošću - 1: kod 13 pacijenta; 3: kod 2 pacijenta; 1+3: kod 24 pacijenta; 1+4: kod 6 pacijenata; 1+2+3: kod 9 pacijenata; 1+2+4: kod 3 pacijenta; 1+3+4: kod 6 pacijenata i 1+2+3+4: kod 3 pacijenta.

Date podatke treba tabelarno (numerički) opisati i grafički prikazati.

Treba primetiti da su u ovom primeru date sledeće kvalitativne varijable:

- Pol: sa 2 kategorije vrednosti (muški, ženski)
- Anestetik: sa 3 kategorije vrednosti (A1, A2, A3)
- Uklanjanje kosti (osnovni tipovi): sa 4 kategorije vrednosti (1,2,3,4)
- Uklanjanje kosti (osnovni tipovi i kombinacije): sa 8 prisutnih kategorija (1;3;1+3;1+4;1+2+3;1+2+4;1+3+4;1+2+3+4)

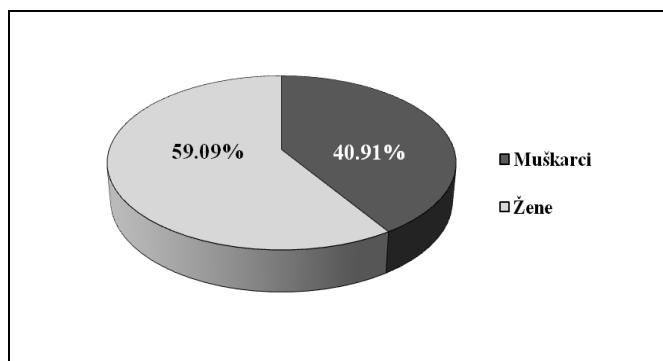
Tabelarni prikaz podataka dat je u tabeli 8.

Tabela 8. Karakteristike pacijenata i lečenja

Karakteristika	N (%)
<b>Pol</b>	
- Muški	27 (40.91%)
- Ženski	39 (59.09%)
<b>Anestetik</b>	
- Lidokain sa adrenalinom+Ropivakain 0.75%	22 (33.33%)
- Lidokain sa adrenalinom	22 (33.33%)
- Ropivakain 0.75%.	22 (33.33%)
<b>Uklanjanje kosti (kombinacije tipova)</b>	
- Bukalno	13 (19.7%)
- Distalno	2 (3.03%)
- Bukalno+distalno	24 (36.36%)
- Bukalno+prep ret mesta	6 (9.09%)
- Bukalno+okluzalno+distalno	9 (13.64%)
- Bukalno+okluzalno+prep ret mesta	3 (4.55%)
- Bukalno+distalno+prep ret mesta	6 (9.09%)
- Bukalno+okluzalno+distalno+prep ret mesta	3 (4.55%)
<b>Ukupno pacijenata</b>	66 (100%)

U biomedicinskim radovima, svaka tabela [14] treba da ima svoj **redni broj i naziv** koji se nalaze **iznad tabele**. Takođe, u tabeli **nema vidljivih linija osim početne i završne linije kao i linijskom kojom se odvaja zaglavljje tabele**.

Grafički prikaz varijable Pol dat je na Grafikonu 1. (tzv. **Pita** /eng. *Pie chart*).

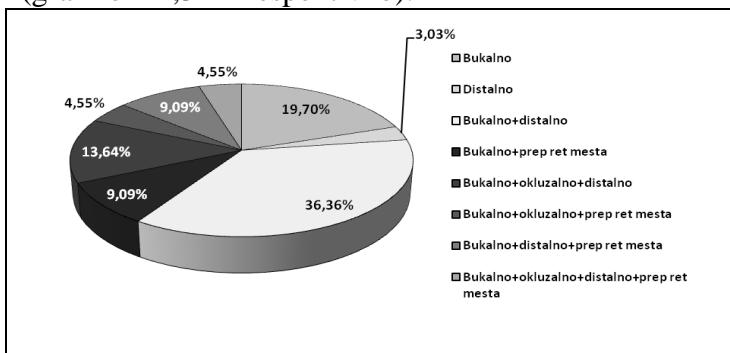


Grafikon 1. Procentualna zastupljenost polova

U biomedicinskim radovima, svaki grafikon [14] treba da:

- ima **redni broj i naziv** koji se nalaze **ispod grafikona**
- može da ima **legendu** kojom se objašnjava značenje kategorija na grafikonu
- ima **označene jedinice mere** (na Grafikonu 1. jedinica mere je %)

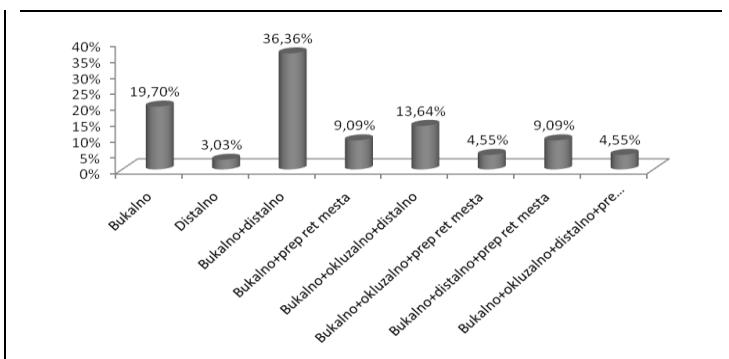
Treba primetiti razlike između sledećih prikaza istih podataka *Uklanjanje kosti - kombinacije tipova* (grafikoni 2,3 i 4 respektivno).



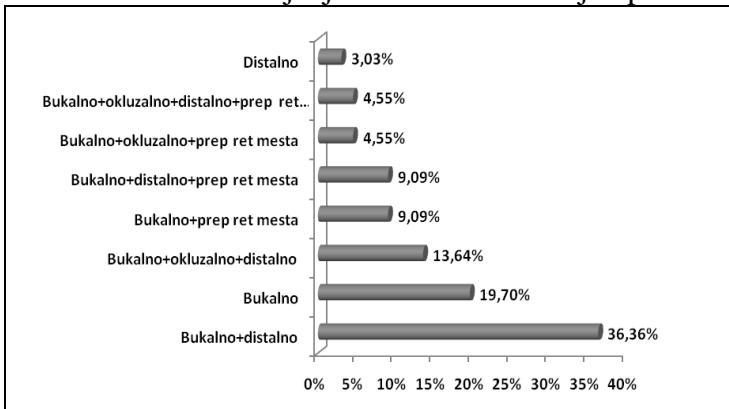
Grafikon 2. Uklanjanje kosti - kombinacije tipova

Na grafikonu 2. prikazana je tzv. Pita. Ona nije najbolji izbor tipa grafikona kada postoji veliki broj kategorija neke varijable jer je nepregledna (naporno je traženje kategorija od interesa).

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović



Grafikon 3. Uklanjanje kosti - kombinacije tipova

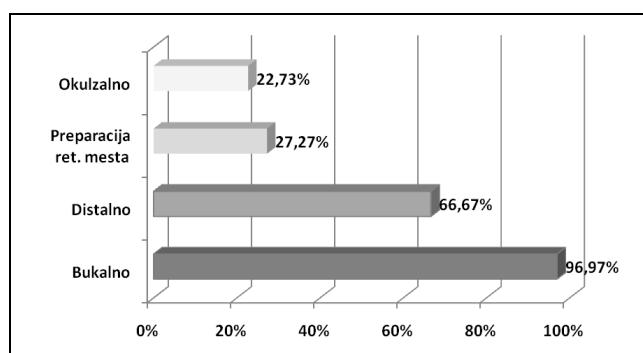


Grafikon 4. Uklanjanje kosti - kombinacije tipova

Pored numeričkog opisa i grafičkog prikaza varijable *Uklanjanje kosti - kombinacije tipova*, od interesa za ovo istraživanje je bio numerički i grafički prikaz kategorija pojedinačnih tipova uklanjanja kosti. Prostim zbrajanjem (sumiranjem) svih pacijenata kod kojih se pojavljuje (samostalno ili u kombinaciji sa drugima) svaki od tipova uklanjanja kosti, dobiju se frekvencije i procentualne zastupljenosti (u odnosu na N=66) svakog od tipova (Tabela 9. i Grafikon 5.).

Tabela 9. Uklanjanje kosti (tipovi)

Karakteristika	N (%)
<b>Uklanjanje kosti (vrsta tipova)</b>	
- Bukalno	64 (96,97%)
- Okulzalno	15 (22,73%)
- Distalno	44 (66,67%)
- Preparacija retencionih mesta	18 (27,27%)
<b>Ukupno pacijenata</b>	<b>66 (100%)</b>



Grafikon 5. Uklanjanje kosti (tipovi)

Grafikon 3. Predstavlja tzv. **Vertikalni stubičasti grafikon** (eng. *Vertical Bar Chart*). Ovaj tip grafikona je pogodan kada postoji veći broj kategorija neke varijable. Ne treba ga koristiti kada su nazivi kategorija jako dugi (kao u Grafikonu 3.).

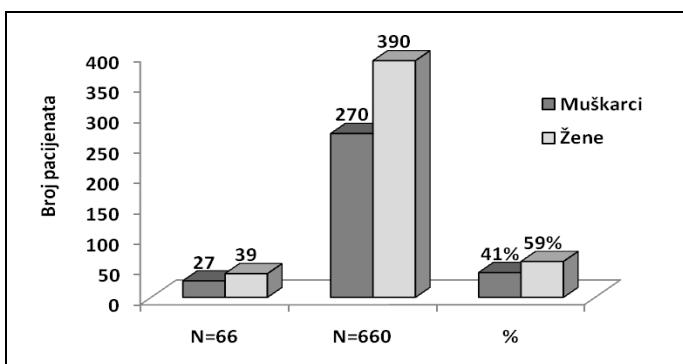
Grafikon 4. Predstavlja tzv. **Horizontalni stubičasti grafikon** (eng. *Horizontal Bar Chart*). Ovaj tip grafikona je pogodan kada postoji veći broj kategorija varijable i kada su nazivi kategorija jako dugi (kao u Grafikonu 3.). Sortiranjem kategorija po procentualnoj zastupljenosti, dobija se jasna i pregledna slika o tipovima uklanjanja kosti i njihovim kombinacijama.

Zbog dužih naziva kategorija, izabran je horizontalni stubičasti grafikon u kome su sortirane procentualne zastupljenosti kategorija te se tako dobija jasna slika o tipovima uklanjanja kosti.

Treba primetiti da je u ovom slučaju **nemoguće koristiti pitu** jer je procentualna zastupljenost kategorija tipova uklanjanja kosti veća od 100% (obzirom da su pacijenti kod kojih je primenjeno više tipova uklanjanja kosti zbrajani u svaku od pojedinačnih kategorija)

U biomedicini je često nejasan razlog favorizovanja procenata, a ne apsolutnih frekvencija kategorija nekog faktora od interesa.

Obim uzorka u ovom primeru je N=66 dok odnos muškrci:žene iznosi 27:39. Pretpostavimo da je sprovedeno drugo istraživanje nad 10 puta većim uzorkom (N=660) i neka je u njemu zabeležen odnos muškrci:žene = 270:390. Grafički prikaz **frekvencija** polova u ova dva istraživanja dat je na Grafikonu 6. (stubići za N=66 i N=660).



Grafikon 6. Učestalost pola

Ovakav grafički prikaz stvara vizuelni osećaj da postoji značajna razlika u rezultatima ova dva istraživanja.

Što je pogrešno jer je u oba istraživanja procentualna zastupljenost polova **jednaka** i iznosi:

$$\text{muškrci:žene} = 41\% : 59\%.$$

Uopšte, procentualno prikazivanje podataka omogućava realniju procenu i prikaz rezultata istraživanja različitih obima uzoraka.

### 6.1.2. Kvantitativne (numeričke) varijable

Numeričke varijable (diskretne ili neprekidne) obično se numerički opisuju *merama centralne tendencije i merama varijabiliteta*, a grafički se prikazuju *grafikonom u koordinatnom sistemu* (eng. *Scatter plot*) ili *Box-and-Whisker Plot-om*.

U biomedicini, kvantitativne varijable se numerički dvojako opisuju tako što se merama centralne tendencije pridružuju odgovarajuće mere varijabiliteta (Slika 45.):

Karakteristika	Terapija A
Starost (godine)	N=43
Xsred (SD)	53.2 (13.7)
Med. (Opseg)	48 (32-91)

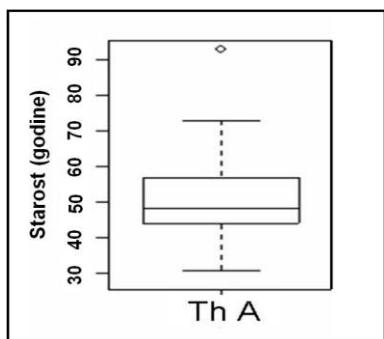
- Prosek (SD) tj. uzoračka srednja vrednost i uzoračka standardna devijacija
- Medijana (opseg) tj. uzoračka medijana i opseg

Slika 45. Numerički opis kvantitativne varijable

Ako diskretna numerička varijabla ima manji broj uzoračkih vrednosti<sup>96</sup>, ona se ponaša kao kategorija te je u takvim situacijama preporučljivo prikazati je učestalošću i procentualnom zastupljenosću uzoračkih vrednosti – kategorija.

<sup>96</sup> Na primer, varijabla broj dece u porodici ima uzoračke vrednosti 0,1,2,3.

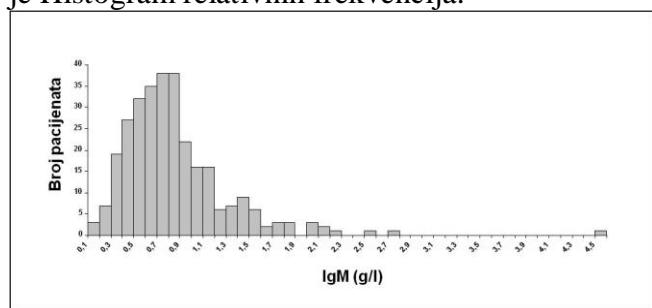
Za grafički prikaz numeričke varijable koristi se tzv. *Box-and-Whisker Plot* (Slika 46.).



Slika 46. Grafički opis kvantitativne varijable

- Granice velikog pravougaonika čine donji (25-ti) i gornji (75-ti) kvantil, dok unutrašnja duž velikog pravougaonika predstavlja medijanu (50-ti kvantil).
- Donju i gornju granicu (eng. *wiskers-brkovi*) *Box-and-Whisker Plot-a* respektivno predstavljaju 2.5% i 97.5% vrednosti.
- Vrednosti van intervala 2.5%-97.5% jesu ekstremi (eng. *Outliers*).

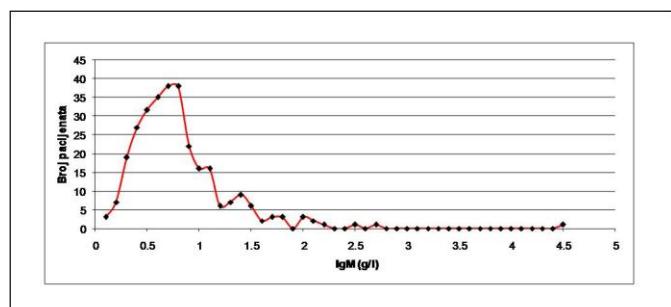
Za set podataka neprekidne numeričke varijable, često se koriste *Histogrami*. Na slici 47. prikazan je Histogram relativnih frekvencija.



Slika 47. Histogram relativnih frekvencija

U biomedicini je veoma važno naglasiti da pri prikazu podataka u koordinatnoj ravni, obavezno treba obeležiti koordinatne ose i navesti jedinice mere ukoliko postoje.

Nedostatak ovih podataka je česta greška.



Slika 48. Poligon relativnih frekvencija

Pored histograma reaktivnih frekvencija mogu se koristiti i *histogrami kumulativnih relativnih frekvencija*.

Umesto histograma, u oba slučaja se mogu koristiti odgovarajući *poligoni* (Slika 48.).

### 5.1.3. Prikaz dve varijable

Prikaz dve varijable u biomedicini zavisi od njihovih tipova.

#### ▪ Dve kategororne varijable:

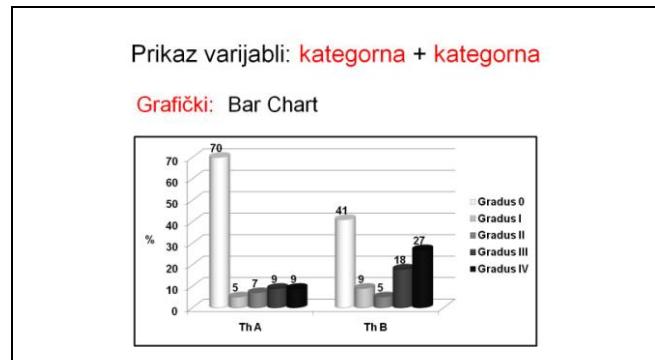
I u numeričkom opisu i pri grafičkom prikazu, kategorije jedne varijable se razvrstavaju po kategorijama druge varijable (Slika 49. i Slika 50.)

Prikaz varijabli: kategorija + kategorija

Tabelarno: Cross-tabulacija

	Th A N (%)	Th B N (%)	Ukupno N (%)
<b>Gradus 0</b>	30 ( 70)	18 ( 40)	48 ( 55)
<b>Gradus I</b>	2 ( 5)	4 ( 10)	6 ( 7)
<b>Gradus II</b>	3 ( 7)	2 ( 5)	5 ( 6)
<b>Gradus III</b>	4 ( 9)	8 ( 18)	12 ( 14)
<b>Gradus IV</b>	4 ( 9)	12 ( 27)	16 ( 18)
<b>Ukupno</b>	<b>43 (100)</b>	<b>44 (100)</b>	<b>87 (100)</b>

Slika 49. Tabelarni prikaz dve kategorije varijable



Slika 50. Grafički prikaz dve kategorije varijable

#### ▪ Kategorija i numerička varijabla:

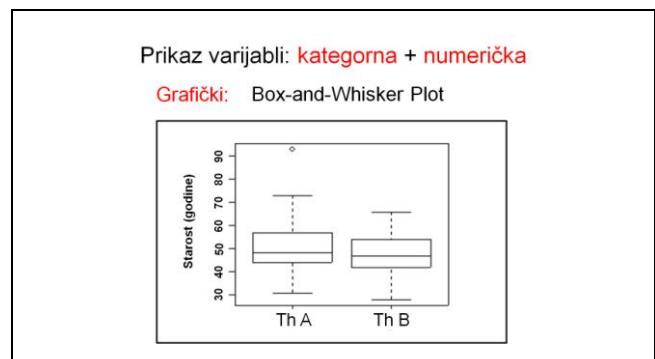
U ovoj situaciji se pri numeričkom opisu i grafičkom prikazu mere deskriptivne statistike numeričke varijable razvrstavaju se po kategorijama druge varijable (Slika 51. i Slika 52.)

Prikaz varijabli: kategorija + numerička

Tabelarno: Numerička po kategorijama

	Terapija A (N=43)	Terapija B (N=44)	Ukupno (N=87)
<b>Starost (godine)</b>			
Prosek (SD)	53.2 (13.7)	50.8 (11.2)	52.1 (14.8)
Med. (Range)	48 (32-91)	47 (29-68)	47 (29-91)

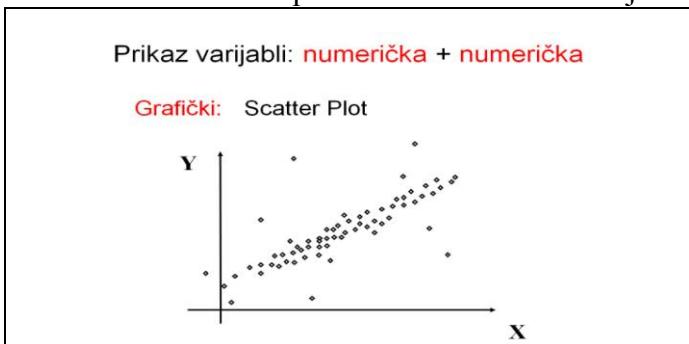
Slika 51. Tabelarni prikaz kategorije i numeričke varijable



Slika 52. Grafički prikaz kategorije i numeričke varijable (Box-and-Whisker Plot)

#### ▪ Dve numeričke varijable

Istovremeni tabelarni prikaz dve numeričke varijable nije moguće.



Slika 53. Grafički prikaz dve numeričke varijable

Izlaganje u ovom poglavlju je ograničeno na nekoliko najčešćih situacija koje se javljaju u biomedicini. U zavisnosti od potreba istraživanja, ponekad je potrebno uraditi numerički opis ili grafički prikaz za 3 i više varijabli. Tada se pridržavati sledećih pravila:

- Tabele i grafikoni treba da budu u skladu sa pravilima prikaza podataka u biomedicini [14]
- Treba uvek navesti jedinice mere, oznake za koordinatne ose ili kategorije
- Pažljivo izračunati procenualnu<sup>97</sup> zastupljenost uzoračkih kategorija.

Za grafički prikaz dve numeričke varijable (Slika 53.) obično se koristi *tačkasti grafikon u koordinatnom sistemu* (*Scatter plot*). Koordinatne ose treba označiti i navesti jedinice mere ukoliko postoje.

<sup>97</sup> Greške u proračunu procenta su jedne od najčešćih grešaka u biomedicini.

## 7. NEKI PROBLEMI I GREŠKE U KLINIČKIM ISTRAŽIVANJIMA

U kliničkim i svim drugim istraživanjima, u svakoj njihovoj fazi se mogu načiniti greške koje se obično ispoljavaju kroz različite probleme. Neke greške se otkrivaju na vreme pa se mogu ispraviti ili bar ublažiti. Međutim, neke od njih, otkrivene ili ne, mogu da ostave veoma ozbiljne posledice na ukupne zaključke ili čak da dovedu u pitanje ishod celog istraživanja.

U želji da se što bolje ilustruju realne situacije, izlaganje u ovom poglavljtu ne prati tok prirodnih faza istraživanja, već se razni problemi i greške u kliničkim istraživanjima navode bez određenog redosleda.

### 7.1. Greške u tumačenju p-vrednosti

U kliničkim ispitivanjima i epidemiologiji, termin *statistički znacajan* se veoma često pogrešno tumači. Tada treba naglasiti da svakodnevna reč *znacajan* u statističkom naučnom istraživanju ima posebno značenje jer se odnosi na konzistentnost uzoračkih podataka sa nultom hipotezom a meri se *značajnošću verovatnoće* tj. značajnošću p-vrednosti [29].

Iako je **p-vrednost formalno verovatnoća da su rezultati eksperimenta (i svi ekstremniji od njih) dobijeni samo slučajno, pod pretpostavkom da je  $H_0$  tačna**, ova definicija je nematematičarima retko kada potpuno jasna. Zato se p-vrednost i u biomedicini veoma često pogrešno tumači (Slika 54).

Table 1 Twelve P-Value Misconceptions

1	If $P = .05$ , the null hypothesis has only a 5% chance of being true.
2	A nonsignificant difference (eg, $P \geq .05$ ) means there is no difference between groups.
3	A statistically significant finding is clinically important.
4	Studies with $P$ values on opposite sides of .05 are conflicting.
5	Studies with the same $P$ value provide the same evidence against the null hypothesis.
6	$P = .05$ means that we have observed data that would occur only 5% of the time under the null hypothesis.
7	$P = .05$ and $P \leq .05$ mean the same thing.
8	$P$ values are properly written as inequalities (eg, " $P \leq .02$ " when $P = .015$ )
9	$P = .05$ means that if you reject the null hypothesis, the probability of a type I error is only 5%.
10	With a $P = .05$ threshold for significance, the chance of a type I error will be 5%.
11	You should use a one-sided $P$ value when you don't care about a result in one direction, or a difference in that direction is impossible.
12	A scientific conclusion or treatment policy should be based on whether or not the $P$ value is significant.

Slika 54. Pogrešne interpretacije p-vrednosti [30; p.136]

Altman DG [26] ukazuje da su najčešće greške u tumačenju p-vrednosti njen poistovećivanje sa verovatnoćom da su uzorački podaci nastali kao rezultat slučajnosti ili sa verovatnoćom da izmereni efekat nije stvaran, realan.

On dalje objašnjava da razlika između ovih pogrešnih definicija i tačne definicije jeste nedostatak fraze **kada je nulta hipoteza tačna**, jer ovaj propust dopušta nekorektno verovanje da je moguće proceniti verovatnoću da je zabeleženi efekat zaista stvaran, realan.

Potom primećuje da taj efekat zaista jeste stvaran, realan jer je zabeležen na uzorku, ali se ne zna da li isti efekat važi i u populaciji iz koje uzorak potiče.

I zaključuje da jedino što se u takvoj situaciji može učiniti jeste da se izračuna verovatnoća dobijenih rezultata (i svih ekstremnijih od njih) kada je nulta hipoteza tačna.

## 7.2. Problem nedostajućih podataka

Nedostajući podaci su nepoželjni i treba se truditi da ih ima što manje. Kada je u fazi planiranja specificirana metodologija njihove aproksimacije, efekat nedostajućih podataka na statističku analizu se ublažava ili potpuno anulira.

Međutim, ukoliko nije precizirana takva metodologija, u nekim situacijama mogu pomoći neparametarski testovi. Naime, kada uzorački podaci potiču iz populacije čija distribucija jeste Gausovska ali nedostaju neke veoma visoke ili veoma niske vrednosti jer ih je nemoguće izmeriti, tada takvim nedostajućim podacima treba arbitarno dodeliti različite visoke vrednosti (nešto više od maksimalno opserviranih) odnosno različite niske vrednosti (nešto niže od minimalno opserviranih) i potom primeniti neparametarske testove bazirane na rangovima.

Kada to nije moguće, veliki broj nedostajućih podataka može značajno otežati statističku analizu.

**Primer 19.** Dat je deo baze podataka za N=6 bolesnika kod kojih se prati promena leukocita (le) tokom 6 merenja (Slika 55.).

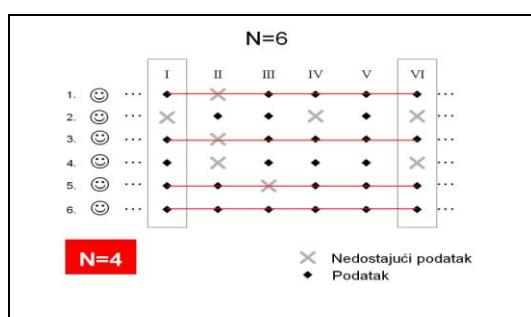
N=6						
	I	II	III	IV	V	VI
1. ☺	◆	✗	◆	◆	◆	◆
2. ☺	✗	◆	◆	✗	◆	✗
3. ☺	◆	✗	◆	◆	◆	◆
4. ☺	◆	✗	◆	◆	◆	✗
5. ☺	◆	◆	✗	◆	◆	◆
6. ☺	◆	◆	◆	◆	◆	◆

✗ Nedostajući podatak  
◆ Podatak

Vrednosti leukocita (le) opservirane tokom I, II, III, IV, V i VI merenja nalaze u istoimenim kolonama na slici 55. Pri tome, koriste se sledeći simboli:

- ✗ - oznaka za nedostajući podatak
- ◆ - oznaka za broj (izmerena vrednost leukocita)

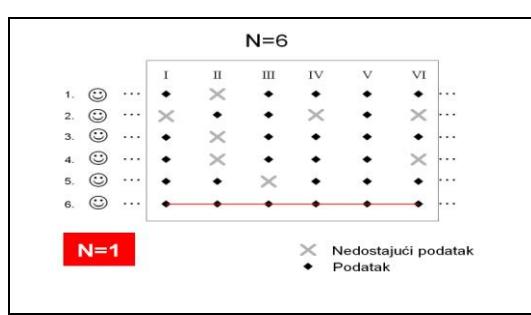
Slika 55. Vrednosti le u 6 merenja



Ako je od interesa za istraživanje poređenje vrednosti leukocita u prvom i poslednjem merenju (Slika 56.), tada je analizu moguće sprovesti samo nad osobama koje imaju te vrednosti (N=4).

Nedostajući podaci redukuju obim uzorka, otežavaju statističku analizu i smanjuju snagu studije.

Slika 56. Analiza le u I i VI merenju



Ako je od interesa za istraživanje poređenje vrednosti leukocita u svim merenjima (Slika 57.), tada je analizu moguće sprovesti samo nad osobama koje imaju te vrednosti (N=1).

Nedostajući podaci nekada toliko redukuju obim uzorka da, ekstremno, čak onemogućavaju statističku analizu. ■

Slika 57. Analiza le u svim merenjima

### 7.3. Pogrešan zaključak I

**Primer 20.** U onkologiji je sprovedeno jedno istraživanje sa ciljem da se kod pacijenata sa nesitnoćelijskim karcinomom pluća identifikuju potencijalni prognostički faktori za ukupno preživljavanje i vreme do progresije bolesti. Nakon statističke analize, zaključeno je sledeće:

*Cox-ovom multivarijatnom analizom pokazano je da starost i pol pacijenata nemaju prognostički značaj za ukupno preživljavanje i vreme do progresije bolesti.*

Ovakva greška je veoma česta u oblasti biomedicine. Sam termin *značajnost (signifikantnost)* unosi prilično konfuzije u tumačenju statističke i praktične (kliničke, biološke) značajnosti te se često statistički nesignifikantan rezultat poistovećuje sa praktičnom neznačajnošću. Ovo je naravno potpuno pogrešno jer nije logično neki rezultat proglašiti indikatorom praktične neznačajnosti samo zato što nije mogao da isključi, odbaci hultu hipotezu.

U komunikaciji sa stručnjacima biomedicine treba posvetiti dovoljno pažnje ovim problemima jer njihovo nerazumevanje može rezultirati veoma ozbiljnim greškama pri interpretaciji rezultata i zaključcima.

### 7.4. Greške u elektronskom zapisu uzoračkih podataka

**Primer 21.** U elektronskoj bazi podataka zabeleženi su uzročnici infekcije za svakog od pacijenata koji su uključeni u istraživanje. Identifikovane su bakterije *Streptococcus* (1), *Staphilococcus* (2), *Clamidia* (3) i *Esherichia coli* (4).

red.br	br.ist	infekc
1.	116/04	1
2.	251/04	1,3
3.	341/04	4
4.	557/04	2,4
5.	581/04	2,3,4
:	:	:

Slika 58. Bakterijska infekcija (1)

Varijablu INFEKC opisuje se prisustvo više vrsta uzročnika bakterijske infekcije (Slika 58.).

Ovakav izbor zapisa i šifriranja podataka otežava njihovu kontrolu, opis i statističku analizu.

Treba primetiti da je forma zapisa tekstualna (karakterna), a ne numerička i da višestrukosti u zapisu otežavaju dobijanje čak i jednostavne informacije o najčešće prisutnoj bakteriji.

Bakterijska infekcija	strep	Streptococcu:	0-odsutna, 1-prisutna
	staph	Staphilococcu:	0-odsutna, 1-prisutna
	clami	Chlamidia:	0-odsutna, 1-prisutna
	esche	Eschericia Colii:	0-odsutna, 1-prisutna
	drugo	Drugo:	0-odsutna, 1-prisutna

red.br	br.ist	strep	staph	clami	esche	drugo
1.	116/04	1	0	0	0	0
2.	251/04	1	0	1	0	0
3.	341/04	0	0	0	1	0
4.	557/04	0	1	0	1	0
5.	581/04	0	1	1	1	0
:	:	:	:	:	:	:

Slika 59. Bakterijska infekcija (2)

Ovakav izbor zapisa i šifriranja bakterijskih uzročnika infekcije olakšava kontrolu podataka, njihov opis i statističku analizu. Čak i informacija o najčešće prisutnoj bakteriji se dobija jednostavnim prebrojavanjem i proračunom relativnih frekvencija za svaki indikator.

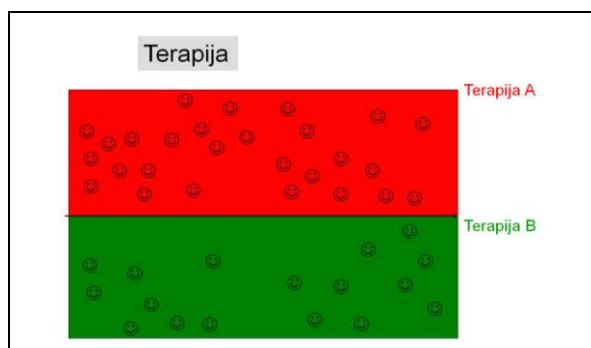
Dodavanjem novih vrsta bakterija, zapis (šifriranje) novih podataka bi ostao jednostavan i pregledan, a njihova kontrola, opis i statistička analiza olakšani.■

## 7.5. Problem višestrukih testiranja - inflacija greške I vrste

Problem višestrukosti (3 ili više grupa, podgrupa, ponovljenih merenja i sl.) u kliničkim istraživanjima je čest i veoma ozbiljan jer dovodi do tzv. **inflacija greške I vrste**. Kako je ova pojava nedovoljno poznata mnogim istraživačima, statistička analiza se kod višestrukosti sprovodi rutinski, dobijeni rezultati tumače uobičajeno (bez neophodnih ograničenja), a to rezultira veoma pogrešnim zaključcima.

Čak i kada nema višestrukosti u istraživanju, u potrazi za odgovorima ili statistički značajnim rezultatima, usled neiskustva ili neznanja, može doći do pojave višestrukosti. U biomedicini, tipičan primer ovakve situacije jeste analiza velikog broja podgrupa nastalih stratifikacijom uzorka.

**Primer 22.** Neka se u kliničkom istraživanju ispituje razlika u efikasnosti između dve terapije A i B (Slika 60.).

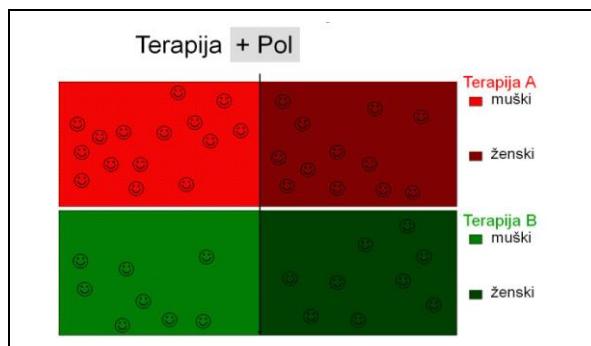


Tada je testiranje razlike u efikasnosti moguće izvršiti primenom samo jednog testa:

**Terapija A** ←→ **Terapija B**

Slika 60. Terapija

Međutim, istraživače takođe interesuje kakva je efikasnost terapija kod muškaraca i žena. Stratifikacijom terapijskih grupa po kategorijama pola, dobijaju se 4 podgrupe (Slika 61.) te se ispitivanje razlike u efikasnosti sada može izvršiti između svih parova formiranih podgrupa (6 statističkih testova).



Od toga, klinički značajne rezultate mogu da pruže samo sledeća 4 testiranja:

**Terapija A** ←→ **Terapija B**



Slika 61. Terapija+Pol

Istraživače takođe interesuje kakva je efikasnost terapija kod mlađih/starijih bolesnika. Daljom stratifikacijom postojećih podgrupa po kategorijama starosti ( $<45\text{ god}$ / $\geq 45\text{ god}$ ) dobija se ukupno 8 podgrupa (Slika 62.) te se ispitivanje razlike u efikasnosti sada može izvršiti između svih parova formiranih podgrupa (28 testova).



Slika 62. Terapija+Pol+Starost ■

Uopšte, primenu velikog broja statističkih testova omogućavaju višestrukosti u istraživanju koje mogu da potiču od:

- više promenljivih (u službi primarnog cilja istraživanja)
- više merenja vrednosti jedne ili više varijabli
- više podgrupa (planiranih dizajnom ili dobijenih stratifikacijom)
- više poređenja (planiranog dizajnom ili uslovljenog stratifikacijom)
- više testiranja iste hipoteze
- višestrukog izbora varijabli i modela
- višestruke statističke analize u funkciji kontrole toka istraživanja (eng. *Interim analysis*)
- skrivenog mnoštva (ekstremne vrednosti)

Ako u uzorku postoji  $k$  podgrupa ( $k \in N, k > 1$ ) tada je moguće sprovesti  $m = k \cdot (k - 1)/2$  testiranja različitih parova (Tabela 10.) i tako dobiti tzv. *porodicu od m zaključaka*<sup>98</sup>.

Tabela 10. Broj grupa i broj testova

Broj grupa (k)	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Broj testova ( $m = k \cdot (k - 1)/2$ )	1	3	6	10	15	21	28	36	45

Međutim, povećavanjem broj testova nad istim setom podataka, raste verovatnoća da bar jedan od njih bude slučajno statistički značajan, odnosno raste verovatnoća da se **slučajno načini bar jedna greška I vrste**.

Drugim rečima, ako je  $\alpha$  nivo značajnosti testa i  $m$  ( $m \in N$ ) broj primenjenih testova, tada je verovatnoća slučajne greške I vrste jednaka  $I - (1 - \alpha)^m$ ,  $m \in N$ .

U tabeli 11. prikazane su verovatnoće (%) slučajne greške I vrste za  $\alpha=0.05$  i  $m$  primenjenih testova, gde  $m \in \{1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20\}$ .

Tabela 11. Verovatnoća (%) slučajne greške I vrste ( $\alpha = 0.05$ ;  $m \in \{1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20\}$ )

k	$I - (1 - \alpha)^m$	$I - (1 - \alpha)^m$ (u %)
1	0.05000	5.00000
2	0.09750	9.75000
3	0.14263	14.26250
4	0.18549	18.54938
5	0.22622	22.62191
10	0.40126	40.12631
15	0.53671	53.67088
20	0.64151	64.15141

<sup>98</sup> Ako su  $\theta_1, \dots, \theta_m$  parametri i  $H_{01}: \theta_1=0, \dots, H_{0m}: \theta_m=0$  nulte hipoteze ( $m \in N$ ), tada se može izvesti  $m$  zaključaka koji se nazivaju *porodicom od m zaključaka* (eng. *family of m inferences*).

Dakle, višestrukosti u istraživanju povećavaju broj primenjenih testova nad istim setom podataka (tzv. problem višestrukog testiranja - eng. *multiple testing problem*) što rezultira porastom verovatnoće slučajne greške I vrste (tzv. inflacijom greške I vrste).

#### ➤ Problem višestrukog testiranja: pojam FWER [41]

Neka se nad istim setom podataka testira m nultih hipoteza  $H_{0j}$  ( $j = 1, \dots, m$ ) i neka A, B, C i D predstavljaju učestalost komparacija (Tabela 12.). Tada je suma  $A+B+C+D$  jednaka ukupnom broju komparacija m.

Tabela 12. Višestruko testiranje m nultih hipoteza  $H_{0j}$ , ( $j = 1, \dots, m$ )

	Značajno	Nije značajno	Ukupno
<b>Nema razlike</b> ( $H_0$ tačne)	A	B	A+B
<b>Razlika stvarno postoji</b> ( $H_0$ netačne)	C	D	C+D
<b>Ukupno</b>	A+C	B+D	m=A+B+C+D

Za oznake iz tabele X, neka je sa  $\alpha$  označena očekivana vrednost za  $A/(A+B)$ . Ako se postavi uobičajeno  $\alpha=0.05$ , to znači da se možete očekivati da svega 5% od svih sprovedenih poređenja - kada su nulte hipoteze tačne (A+B) - budu slučajno statistički značajne. Odnosno, može se očekivati da je  $A/(A+B)=\alpha$ .

Uobičajeni pristup za problem višestrukih testiranja jeste podešavanje strožijeg praga za definisanje statističke značajnosti. Cilj ovakvog pristupa jeste strožije definisanje *značajnosti* tako da - ako su sve nulte hipoteze tačne - postoji samo 5% šansi za slučajno dobijanje jednog ili više *značajnih* rezultata, odnosno da postoji 95% šanse da nijedna od komparacija ne dovodi do slučajno *značajnog* zaključka.

Kako se 5% odnosi na ceo eksperiment, postavljena granica se ponekad naziva *experimentwise error rate* ili FWER-familywise error rate (sinonimi).

#### ➤ Pristup višestrukim testiranjima: bez korekcije [41]

##### 1. Bez korekcije kada su višestruka testiranja u funkciji tumačenja rezultata

U ovakvoj situaciji, neki statističari preporučuju da se ne koriste nikakve korekcije za višestruka poređenja već da se prikažu svi rezultati tj. sve pojedinačne p-vrednosti i odgovarajući intervali poverenja, uz jasnu naglašenost da nema matematičke korekcije za višestruka testiranja.

Kod ovakvog pristupa se preporučuje neformalna kontrola: ako su sve nulte hipoteze istinite, može se očekivati da u 5% komparacija nekorektna p-vrednost bude manja od 0.05. Tada 5% od ukupnih komparacija treba uporediti sa stvarnim brojem p-vrednosti koje su manje od 0.05.

Nakon ANOVE, Fišerov LSD test dopušta isti pristup.

##### 2. Bez korekcije ako se sprovedi samo nekoliko planiranih poređenja

Postoje preporuke da se ne sprovodi korekcija za višestruka testiranja kada je u fokusu istraživanja svega nekoliko naučno ili praktično opravdanih komparacija, a ne sva moguća poređenja. Međutim, ovakve komparacije moraju biti planirane i predviđene dizajnom istraživanja i ne mogu se sprovoditi nakon realizacije istraživanja i prikupljanja podataka.

##### 3. Bez korekcije kada su poređenja komplementarna

Postoje preporuke da se ne čini nikakva formalna korekcija za višestruka komplementarna testiranja tj. za testiranja koja se sprovode unutar međusobno disjunktnih<sup>99</sup> podgrupa jer ovakva poređenja često pružaju podršku primarnom cilju istraživanja.

<sup>99</sup>Na primer testiranje efikasnosti lekova A i B posebno nad podgrupama muškarca/žena, starih/mladih, pušača/nepušača i sl.

- **Pristup višestrukim testiranjima: korekcije kontrolom FWER** [41]  
Postoji više korekcija, metoda i procedura kojima se rešava problem višestrukih testiranja:
- ✓ **Bonferonijeva korekcija** (eng. *Bonferroni correction*) bez uslova o zavisnosti/nezavisnosti grupa: Ako je  $m$  broj poređenja ( $m \in \{1, 2, 3, \dots\}$ ) i  $\alpha$  zadati nivo značajnosti za jedan test, tada treba odbaciti  $H_m$  ukoliko je  $p_m \leq \alpha_m$  gde je  $\alpha_m \leq \alpha / m$
- ✓ **Šidakova procedura** (eng. *Sidak's multiple testing procedure*) za nezavisne grupe: Ako je  $k$  broj poređenja ( $m \in \{1, 2, 3, \dots\}$ ) i  $\alpha$  zadati nivo značajnosti za jedan test, tada treba odbaciti  $H_m$  ukoliko je  $p_m \leq \alpha_m$  gde je  $\alpha_m \leq 1 - (1 - \alpha)^{1/m}$
- ✓ **Takijev test** (eng. *Tukey's test*, *Tukey range test*, *Tukey method*, *Tukey's honest significance test*, *Tukey's HSD /honestly significant difference/ test*, *the Tukey-Kramer method*) za nezavisne parove jednakih varijansi. Koristi se nakon ANOVE ako se vrši poređenje međusobno svake grupe sa svakom.
- ✓ **Holmsova procedura ili Holm-Bonferoni metod** (eng. *Holm's step-up procedure*; *Holm-Bonferroni method*) bez uslova o zavisnosti/nezavisnosti grupa: Neka su  $p_1 \leq \dots \leq p_m$  sortirane verovatnoće dobijene testiranjem odgovarajućih  $H_1, \dots, H_m$  hipoteza koje se ispituju tokom višestrukog testiranja nad istim setom podataka. Za zadati nivo značajnosti  $\alpha$  neka je  $r = \min\{ i \mid p_i > \alpha / (m + 1 - i); i \in \{1, \dots, m\} \}$ . Tada se odbacuju hipoteze  $H_1, \dots, H_{r-1}$ . Ako je  $r=1$ , tada se ne odbacuje ni jedna hipoteza. Ako  $r \in \emptyset$ , tada se odbacuju sve hipoteze.
- ✓ **Hošbergova procedura** (eng. *Hochberg's step-up procedure*) bez uslova o zavisnosti/nezavisnosti grupa: Neka su  $p_1 \leq \dots \leq p_m$  sortirane verovatnoće dobijene testiranjem odgovarajućih  $H_1, \dots, H_m$  hipoteza koje se ispituju tokom višestrukog testiranja nad istim setom podataka. Za zadati nivo značajnosti  $\alpha$  neka je  $r = \max\{ i \mid p_i \leq \alpha / (m + 1 - i); i \in \{1, \dots, m\} \}$ . Tada se odbacuju hipoteze  $H_1, \dots, H_r$ .
- ✓ **Danetov test** (eng. *Dunnett's test*) za nezavisne parove jednakih varijansi. Koristi se nakon ANOVE ako se vrše sva poređenja sa samo jednom grupom (kontrolnom).  
Hošbergova procedura je moćnija od Holmsove, a obe su moćnije od Bonferonijeve korekcije višestrukosti. Pored toga, ako je  $m$  broj poređenja, postoje preporuke da se za  $m < 10$  koristi Bonferonijeva korekcija a za  $m \geq 10$  Holmsov ili Hošbergov metod.

Navedenim metodama nisu obuhvaćene ni sve procedure ni sve višestrukosti.

#### ➤ **Pristup višestrukim testiranjima: druge korekcije**

Poslednjih godina se vrše brojna istraživanja u genetici . Eksperimenti na DNK , RNK mogu generisati veoma velike količine podataka koje istraživačima omogućavaju pro cenu ukupnog stanja celija ili organizma . Međutim, ovako velika količina podataka može biti teška za analizu, naročito u odsustvu pogodnog zapisa gena.

Poslednjih godina se za potrebe takvih istraživanja sve više korise tzv. *Microarray analysis* tehnike namenjene tumačenju podataka dobijenih iz eksperimenata . Ove tehnike omogućavaju istraživačima da ispitaju stanje (ekspresiju) velikog broja gena - u mnogim slučajevima i ceo genom nekog organizma u samo jednom eksperimentu.

Problem višestrukih testiranja je prisutan i u ovakvim istraživanjima - u njima se istovremeno testira na hiljade hipoteza - te kontrola FWRE u takvim situacijama nije pogodna jer je suviše konzervativna.

Za genetske analize i *Microarray analysis* tehnike, ocena FDR (eng. *False Discovery Rate*) je jedna od alternativa.

Problem višestrukosti je veoma širok (zavisni uzorci; kod neparametarskih metoda itd.) i veoma aktuelan.

Poslednjih godina se koristi i Bajesovski pristup.

## 7.6. Posledica nepreciznosti – nepouzdani uzorački podaci

Procena toksičnosti izvesne terapije, pored laboratorijskih analiza i drugih merljivih pokazatelja, obično obuhvata i podatke o tegobama, promeni opšteg stanja i drugim neželjenim dejstvima o kojima informacije može da pruži jedino bolesnik. Zato su ankete najčešće stavnji deo dokumentacije namenjene proceni i praćenju toksičnosti terapije.

**Primer 23.** Za procenu toksičnosti terapije, anketom su obuhvaćena pitanja koja se odnose na prisustvo pospanosti (ošamućenosti), mučnine, konfuzije (zbumjenosti), oslabljenog apetita i zatvora. Na slici 46. prikazan je deo ankete koju je popunio bolesnik KM.

<p style="text-align: center;"><b>Procena toksičnosti</b></p> <p style="text-align: center;"><b>(Evaluacija na početku III ciklusa terapije)</b></p> <p><b>Inicijali pacijenta:</b> KM <b>Protokol No:</b> IPM421/11 <b>Centar No:</b> 3</p> <p>Molimo Vas da zaokružite prisustvo sledećih neželjenih efekata:</p> <ul style="list-style-type: none"><li><input checked="" type="checkbox"/> 1. Pospanost (ošamućenost)</li><li><input type="checkbox"/> 2. Mučnina</li><li><input checked="" type="checkbox"/> 3. Konfuzija (zbumjenost)</li><li><input type="checkbox"/> 4. Oslabljen apetit</li><li><input type="checkbox"/> 5. Zatvor</li></ul>
--

Slika 63. Anketa bolesnika KM

Na osnovu zaokruženih opcija u anketi (Slika 63.) jasno je da je bolesnik KM imao sledeće tegobe: pospanost i osećaj konfuzije (zbumjenosti).

<p style="text-align: center;"><b>Procena toksičnosti</b></p> <p style="text-align: center;"><b>(Evaluacija na početku III ciklusa terapije)</b></p> <p><b>Inicijali pacijenta:</b> MR <b>Protokol No:</b> IPM421/11 <b>Centar No:</b> 3</p> <p>Molimo Vas da zaokružite prisustvo sledećih neželjenih efekata:</p> <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> 1. Pospanost (ošamućenost)</li><li><input type="checkbox"/> 2. Mučnina</li><li><input type="checkbox"/> 3. Konfuzija (zbumjenost)</li><li><input type="checkbox"/> 4. Oslabljen apetit</li><li><input type="checkbox"/> 5. Zatvor</li></ul>
--

Slika 64. Anketa bolesnika MR

Na slici 64. prikazan je deo ankete koju je popunio bolesnik MR. Kako nema zaokruženih opcija, može se zaključiti da bolesnik MR uopšte nije imao tegobe.

Ili, bolesnik MR **nije popunio anketu.**

<p style="text-align: center;"><b>Procena toksičnosti</b></p> <p style="text-align: center;"><b>(Evaluacija na početku III ciklusa terapije)</b></p> <p><b>Inicijali pacijenta:</b> _____ <b>Protokol No:</b> IPM421/11 <b>Centar No:</b> 3</p> <p>Molimo Vas da zaokružite prisustvo sledećih neželjenih efekata:</p> <table border="0"><tr><td>1. Pospanost (ošamućenost).....</td><td><input type="checkbox"/> Da</td><td><input type="checkbox"/> Ne</td></tr><tr><td>2. Mučnina.....</td><td><input type="checkbox"/> Da</td><td><input type="checkbox"/> Ne</td></tr><tr><td>3. Konfuzija (zbumjenost).....</td><td><input type="checkbox"/> Da</td><td><input type="checkbox"/> Ne</td></tr><tr><td>4. Oslabljen apetit.....</td><td><input type="checkbox"/> Da</td><td><input type="checkbox"/> Ne</td></tr><tr><td>5. Zatvor.....</td><td><input type="checkbox"/> Da</td><td><input type="checkbox"/> Ne</td></tr></table>	1. Pospanost (ošamućenost).....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne	2. Mučnina.....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne	3. Konfuzija (zbumjenost).....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne	4. Oslabljen apetit.....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne	5. Zatvor.....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne
1. Pospanost (ošamućenost).....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne													
2. Mučnina.....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne													
3. Konfuzija (zbumjenost).....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne													
4. Oslabljen apetit.....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne													
5. Zatvor.....	<input type="checkbox"/> Da	<input type="checkbox"/> Ne													

Slika 65. Ponuđene opcije odgovora

U sličnim situacijama, u anketama treba ponuditi sve opcije odgovora koje su važne za istraživanje. U ovom primeru, to su prisustvo/odsustvo tegoba (Slika 65.).

Na takav način bar će biti jasnije šta su nedostajući podaci. ■

Usled nedovoljno pažnje ili nepreciznosti u fazi planiranja istraživanja, mogu se dobiti **nepouzdani** ili **neprecizni uzorački podaci**.

## 7.7. Pogrešna tumačenja korelacije

Pogrešno tumačenje korelacije u biomedicini je veoma često. Naime, veliki broj biomedicinskih istraživača pogrešno tumači statističku značajnost koeficijenta korelacije.

### Tumačenje i značajnost koeficijenta korelacije

**Pitanje:** U istraživanju povezanosti raspoloženja i količine tekućine unesene pijenjem tijekom dana dobivena je povezanost  $r = 0,12$ ;  $P = 0,003$ . Je li ispravno zaključiti kako postoji značajna povezanost raspoloženja i količine popijene tekućine?

**Odgovor:** Nije ispravno.

**Tumačenje:** Nakon izračuna koeficijenta korelacije važno je znati kako rezultat protumačiti, odnosno objasniti što vrijednosti koeficijenta korelacije zaista znače. U prikazu rezultata korelacija obvezno se navode koeficijent povezanosti (korelacije) "r" i to brojem s dva decimalna mjesta, te značajnost koeficijenta korelacije "P" brojem s tri decimalna mjesta (4). Ukoliko je koeficijent korelacije značajan s obzirom na postavljenu granicu značajnosti (uobičajeno  $P < 0,05$ ), zaključujemo da je koeficijent korelacije značajan i da se smije tumačiti. Ukoliko je vrijednost  $P > 0,05$  zaključujemo da koeficijent korelacije nije značajan i tada se bez obzira na njegovu vrijednost ne smije tumačiti. Prilikom tumačenja vrijednosti koeficijenta korelacije vrijede ista pravila i za Pearsonov i Spearmanov koeficijent te se uobičajeno smatra kako vrijednosti  $r$  od 0 do 0,25 ili od 0 do -0,25 upućuju kako nema povezanosti, dok vrijednosti  $r$  od 0,25 do 0,50 ili od -0,25 do -0,50 upućuju na slabu povezanost među varijablama. Vrijednosti  $r$  od 0,50 do 0,75 ili od -0,50 do -0,75 upućuju na umjerenu do dobru povezanost, te vrijednosti  $r$  od 0,75 do 1 ili od -0,75 do -1 upućuju na vrlo dobru do izvrsnu povezanost među varijablama (1).

Sukladno navedenome, pogrešno je zaključiti kako postoji značajna povezanost raspoloženja i količine popijene tekućine tijekom dana. Ispravno zaključivanje glasi: nema povezanosti između ispitivanih varijabli ( $r = 0,12$ ) i to smijemo tvrditi jer je koeficijent korelacije značajan ( $P=0,003$ ) (5,6). [36]

Na osnovu prethodnog citata može se zaključiti da statistička značajnost koeficijenta korelacije ne podrazumeva postojanje linearne povezanosti dve neprekidne varijable.

Druga, možda još češća i još opasnija greška, jeste poistovećivanje zavisnosti i uzročnosti.

### Povezanost i uzročno posljedična veza

**Pitanje:** U istraživanju povezanosti koncentracije alkohola u krvi i prometnih nesreća utvrđeni su  $r = 0,78$  i  $P=0,002$ . Možemo li zaključiti kako uzimanje alkohola uzrokuje prometne nesreće, tj. promatrane prometne nesreće su posljedica uzimanja alkohola?

**Odgovor:** Ne, ne možemo.

**Tumačenje:** Korelacija govori o povezanosti, a ne o uzročno posljedičnoj vezi među varijablama. Dakle, ukoliko postoji visoka povezanost između uzimanja alkohola i prometnih nesreća ne možemo zaključiti da jedna varijabla utječe na drugu, odnosno da uzimanje alkohola uzrokuje nesreće u prometu. Moguće je da veća količina alkohola uzorkuje više prometnih nesreća, no postoji mogućnost značajnog utjecaja ostalih neispitivanih čimbenika ili rijetkih dogadaja (7,8). U opisanom primjeru to bi moglo biti stanje na cesti, ispravnost vozila, moguća bolest vozača nevezana za alkohol, djelovanje drugih farmakološki aktivnih tvari i sl.

U istraživanjima se korelacija treba ponajprije koristiti za postavljanje hipoteza, a ne za njihovo testiranje kao što se to često sasvim pogrešno koristi (9). Primjerice, utvrdi li se povezanost između varijabli, uzročno posljedična veza dokazuje se znanstvenim pokusom. Jedini pokus kojim se dokazuje uzročno posljedična veza u biomedicini jest randomizirani kontrolirani klinički pokus (10). [36]

U skladu sa prethodnim citatima, može se zaključiti da:

- visok koeficijent korelacije nije dovoljan za potvrdu uzročno-posledične veze, odnosno **korelacija ne podrazumeva uzročnost**
- korelacijske treba svega koristiti za **generisanje hipoteza a ne njihovo testiranje**.

## 7.8. Pogrešan izbor tipa istraživanja

Inflamatorni karcinomom dojke je inicijalno neoperabilno maligno oboljenje te hemoterapijski pristup predstavlja osnovni oblik njegovog lečenja. Sa druge strane, poslednjih godina u fokusu mnogobrojnih kliničkih istraživanja jeste ispitivanje prediktivnog značaja različitih molekularnih markera (HER 2, antigen Ki67, protein p53) za ishod lečenja raznih vrsta oboljenja.

**Primer 24.** U oblasti onkologije je planirano jedno kliničko istraživanje sa ciljem da se ispita povezanost molekularnih markera sa ishodom hemoterapijskog lečenja bolesnica sa inflamatornim karcinomom dojke, lecene u periodu od 1999-2009 godine. Kako je postojanje prediktivnih faktora za dobar ishod lečenja najznačajnija informacija u svakom terapijskom pristupu, to je cilj ovog istraživanja formulisan na sledeći način: *Ispitati prediktivan značaj molekularnih markera HER 2, antiga Ki67 i proteina p53 na pozitivan hemoterapijski odgovor kod bolesnica sa inflamatornim karcinomom dojke.* Izabran je tip studije - retrospektivna, komparativna.



Slika 66. Procentualna zastupljenost kategorija Th odgovora

Jednu komparativnu grupu bi činile pacijentkinje koje su tokom hemoterapijskog lečenja (1999-2009) postigle pozitivan odgovor (Th+) dok bi u drugoj bili pacijentkinje sa negativnim odgovorom (Th-).

Analizom dostupnih informacija, primećeno je da je odnos (Th+):(Th-) iznosio od 70:30% do 75:25% u zavisnosti od režima hemoterapije. (Slika 66. i 67.)



Slika 67. Disbalans komparativnih grupa

Ovakava neuravnoteženost komparativnih grupa značajno bi opteretila ukupno istraživanje kompleksnim restrikcijama<sup>100</sup> (Th+) grupe.

Kako je u pitanju retrospektivna studija sa ograničenim brojem bolesnica, takvom restrikcijom bi se dodatno umanjio obim ukupnog uzorka.

Nakon pažljivih i detaljnih razmatranja, zaključeno je da bi predloženo istraživanje nosilo suviše rizika po relevantnost budućih zaključaka. Zato je formulisan novi cilj istraživanja: *Ispitati povezanost molekularnih markera HER 2, antiga Ki67 i proteina p53 sa opštim demografskim karakteristikama kao i karakteristikama oboljenja i hemoterapijskog lečenja kod bolesnica sa inflamatornim karcinomom dojke.* Izabran je tip studije - opservaciona, retrospektivna.

Realizacija ove studije nije bila sporna.■

<sup>100</sup> Da bi grupe bile uravnotežene, potrebno je da budu sličnog obima i da bolesnice budu sličnih karakteristika. Kako je (Th-) grupa manja, po njoj bi se vršio izbor bolesnica iz (Th+) grupe a to bi značilo zahtevnu potragu za pacijentkinjama slične starosti, stadijuma bolesti, vrste hemoterapije, dužine lečenja i sl.

## 7.9. Posledica nepreciznosti – pogrešni uzorači podaci

U kliničkim trajalima kojima se ispituje efikasnost i podnošljivost neke terapije, uvek je predviđen prostor (slobodan tekst ili šifre) za kliničku i/ili histopatološku dijagnozu raznih oboljenja: osnovno (zbog koje se terapija ordinira) ili prateća – hronična/akutna (radi evaluacije neželjenih događaja kod bolesnika sa pridruženim oboljenjima).

**Primer 25.** Za potrebe kliničkog trajala kojim se ispitivao efekat i podnošljivot antibiotika XY, generisana je tzv. *Test lista*<sup>101</sup>. Ovim dokumentom, je između ostalog, u formi slobodnog teksta predviđeno prikupljanje podataka o osnovnom oboljenju zbog koga se ordinira antibiotik XY kao i pratećim oboljenjima (dijagnoze respektivno osnovnog i pratećih oboljenja).

Segment jedne popunjene Test-liste prikazan je na slici 68.

Dijagnoza: <b>Ca Mammae I.dex</b>									
<b>Prateća oboljenja:</b>									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Dijagnoza</th> <th>Trajanje oboljenja (meseci)</th> <th>Terapija (Da/Ne)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Diabetes Melitus</td> <td>5 godina (60 meseci)</td> <td>Da</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Dijagnoza	Trajanje oboljenja (meseci)	Terapija (Da/Ne)	Diabetes Melitus	5 godina (60 meseci)	Da	...		
Dijagnoza	Trajanje oboljenja (meseci)	Terapija (Da/Ne)							
Diabetes Melitus	5 godina (60 meseci)	Da							
...									

Slika 68. Dijagnoza: Ca Mamiae l. dex

Iz priloženog segmenta Test liste, može se zaključiti da ovaj pacijent ima karcinom desne dojke kao osnovno oboljenje i Diabetes Melitus kao prateće oboljenje (5 godina; prima terapiju).

Međutim, tek je onda nejasno zašto je zbog dijagnoze karcinoma desne dojke ovom bolesniku ordinirana terapija antibiotikom.

Karcinom dojke je teško oboljenje i ne leči se antibioticima. Ali njihova upotreba je neophodna čak i kod bolesnika sa karcinomom dojke ukoliko on ima bakterijsku infekciju, zapaljeni proces, sepsu, ako je doživeo politraumu, itd.

U slučaju Test-liste sa slike 68., dijagnoza zbog koje je bolesnik sa karcinomom desne dojke primao antibiotik XY - ostaje često zauvek nepoznat i izgubljen podatak.

Izloženi problem se ne bi pojavio da je u Test listi umesto teksta *Dijagnoza* stavljen tekst *Dijagnoza zbog koje se primenjuje antibiotska terapija* (Slika 69.).

<b>Dijagnoza zbog koje se primenjuje antibiotska terapija:</b>		
Infekcija kože nakon subkutane mastektomije		
<b>Prateća oboljenja:</b>		
<b>Dijagnoza</b>	<b>Trajanje oboljenja (meseci)</b>	<b>Terapija (Da/Ne)</b>
Ca Mammæ I.dex	6 meseci	Da
Diabetes Melitus	5 godina (60 meseci)	Da
...		

Slika 69. Dijagnoza: Infekcija kože

Tada bi se precizno znalo da ovaj pacijent kao prateća oboljenja ima karcinom desne dojke i Diabetes Melitus (5 godina; prima terapiju), a da dobija spitivani antibiotik XY zbog infekcije kože nakon operacije (Slika 69.). ■

Dijagnoza je često višestruka a većina lekara obično ima na umu teže oboljenje pacijenta. Zato u sličnim situacijama uvek treba precizirati na koju dijgnozu se misli.

Uopšte, pažljive i precizne formulacije (pitanja, komentara, naziva) su od primarnog značaja za dobijanje preciznih podataka. Samim tim, povećavaju se i šanse za dobijanje preciznijih odgovora na postavljena istraživačka pitanja.

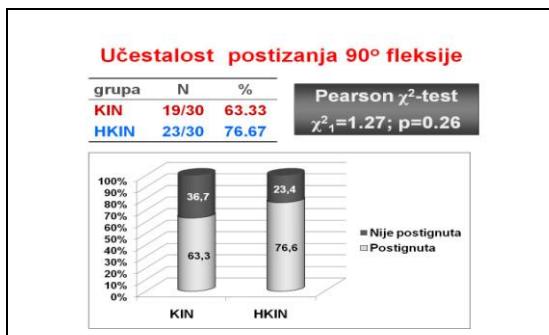
<sup>101</sup> **Test lista** (eng. *CRF-Case Report Form*) je papirni i/ili elektronski upitnik namenjen prikupljanju i čuvanju svih relevantnih podataka o stanju pacijenta i oboljenja koji se prate i beleže tokom realizacije prospektivnog kliničkog istraživanja, uključujući i blaže neželjene događaje. Ozbiljni neželjeni događaji se posebno zapisuju u specijalnom dokumentu. Svaki pacijent u istraživanju ima svoju Test listu.

## 7.10. Pogrešan izbor primarne varijable

Pri izboru primarne varijable za verifikaciju ciljeva istraživanja, treba uvek imati na umu da od njenog izbora zavise metode buduće statističke analize, a samim tim i odgovori na postavljena istraživačka pitanja. Bez dovoljno pažnje, može se desiti da se ostane bez njih.

**Primer 26.** Prospektivno komparativno istraživanje iz oblasti fizijatrije je obuhvatalo 60 bolesnika sa artroplastikom kolena koji su bili na banjskom lečenju (trajanje 21 dan) pri čemu je 30 bolesnika podvrgnuto kineziterapiji (KIN grupa) a ostalih 30 hidrokineziterapiji (HKIN grupa). Cilj istraživanja je bilo ispitivanje uspešnosti hidrokineziterapije u odnosu na kineziterapiju u postizanju fleksije noge u kolenu od  $90^0$ . Istraživanje je realizovano a fleksiju noge u kolenu od  $90^0$  postiglo je 19/30 bolesnika u KIN i 23/30 bolesnika u HKIN grupi.

U zavisnosti od izbora primarne varijable za verifikaciju postavljenog cilja, rezultati statističke analize (za  $\alpha=0.05$ ) uslovili bi sledeće zaključke:



Primarna varijabla (Slika 70.) je:

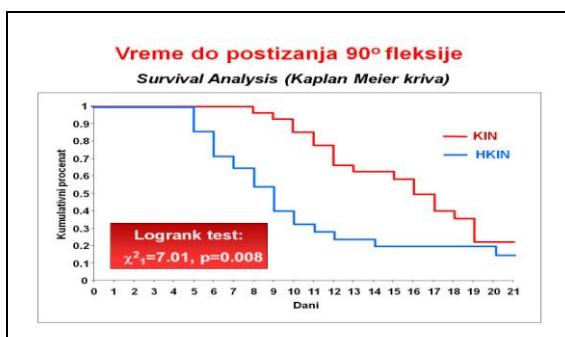
Učestalost postizanja fleksije noge u kolenu od  $90^0$

Primenom odgovarajućeg testa dobijen je rezultat:

Pearson  $\chi^2$ -test;  $\chi^2_1=1.27$ ;  $p=0.26$

Tada se može zaključiti da nema statistički značajne razlike u učestalosti bolesnika sa postignutom fleksijom noge u kolenu od  $90^0$  između HKIN i KIN grupe.

Slika 70. Primarna varijabla: učestalost



Primarna varijabla (Slika 71.) je:

Vreme do postizanja fleksije noge u kolenu od  $90^0$

Primenom metodologije analize preživljavanja (eng.

*Survival Analysis*) dobijen je rezultat:

Log-rank test;  $\chi^2_1=7.01$ ;  $p=0.008$

Tada se zbog  $p<0.05$  može zaključiti da bolesnici HKIN grupe statistički značajno brže postižu fleksiju noge u kolenu od  $90^0$  u odnosu na bolesnike KIN grupe. ■

Slika 71. Primarna varijabla: vreme-ishod

Iako primer 26. uz nešto više detalja može da posluži kao model za pojašnjavanje osnova *Analize preživljavanja*, u navedenoj formi je dovoljno ilustrativan za razumevanje zavisnosti metoda buduće statističke analize od izbora primarne varijable, a samim tim i egzistenciju korektnog odgovora na postavljena istraživačka pitanja.

Uz to, u komunikaciji sa stručnjacima biomedicine treba uvek naglasiti da nominalne i ordinalne varijable sužavaju spektar mogućih statističkih testova i tehnika na užu klasu metoda daleko manjih moći (često samo tabele kontigencije). Pogrešnim ili nedovoljno preciznim izborom tipa varijabli u fazi planiranja ili nepoštnoj u fazi merenja ili prikupljanja podataka (kategorije starosti  $<50$  vs.  $\geq 50$  god. umesto numeričkih vrednosti) može doći do nepovratnog gubitka potencijalnih numeričkih podataka koji omogućavaju primenu najšireg spektra statističkih metoda.

## 7.11. Regresija - problem ekstrapolacije

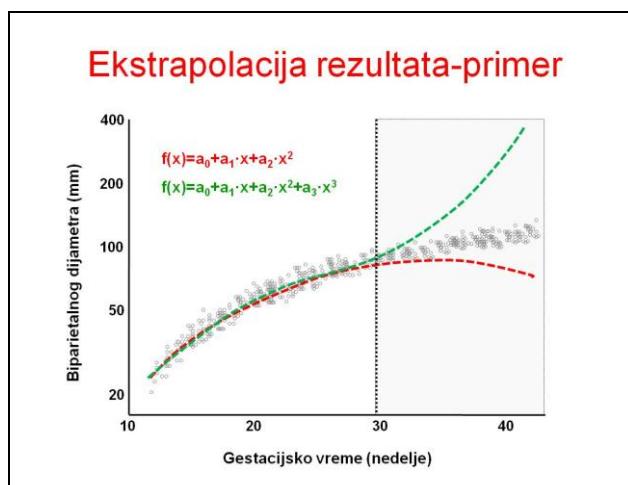
Ciljevi kliničkih istraživanja, posebno kliničkih trajala, nisu usmereni ka dobijanju informacija o konkretnim pojedincima već ka otkrivanju zakonitosti pojava i procesa radi njihovog uopštavanja. Naime, prilikom ispitivanja efikasnosti nekog tretmana, proučavaju se podaci o pacijentima uključenim u trajal sa ciljem da se dođe do saznanja koja će omogućiti predviđanje ishoda (stanja) budućih pacijenata koji budu podvrgnuti istom tretmanu.

Otuda je značaj regresione analize u kliničkim istraživanjima veoma važan. Ova klasa statističkih metoda se u istraživanjima koristi za detekciju prognostičkih faktora i predikciju ishoda.

Uopšte, na osnovu regresionog modela je moguće izvršiti:

- **interpolaciju** – predviđanje unutar opsega uzoračkih vrednosti varijabli modela
- **ekstrapolaciju** – predviđanje van opsega uzoračkih vrednosti varijabli modela

Interpolacija i ekstrapolacija predstavljaju vrstu generalizacije rezultata i bez dovoljno pažnje, mogu rezultirati veoma pogrešnim zaključcima.



Slika 72. Ekstrapolacija (1)

Na to ukazuju Altman D.G i sar. [25] kroz primer ekstrapolacije pomoću regresionih modela (Slika 72.) za biparietalni dijametar fetusa (širina glave fetusa u mm; na slici 72. predstavljena log-skalom) i gestacijsko vreme (dužina trudnoće u nedeljama) na uzorku od 119 trudnica.

I kubna i kvadratna funkcija predstavljaju dobre regresione modele, ali samo za fetuse stare do 30 odnosno 34 gestacijskih nedelja respektivno. Ekstrapolacija za veće gestacijske vrednosti po oba modela, rezultira nepreciznim vrednostima biparietalnog dijametra fetusa.



Slika 73. Ekstrapolacija (2)

Altman D.G i sar. [25] dalje razmatraju slučaj linearног regresionog modela koji povezuje veličinu ušiju (u mm) kod muškaraca sa njihovom starošću (od 30 do 93 god.):

$$\text{veličina ušiju} = 55.9 + 0.22 \times \text{starost} \text{ (u god.)}$$

Ekstrapolacijom bi se mogao obuhvatiti i granični slučaj kada je starost=0, te bi predikcijom po modelu, veličina ušiju tek rođenog dečaka iznosila 55.9 mm (Slika 73.).

Takva beba bi, zaključuju Altman D.G i sar. [25], bila najviše nalik Dambu, popularnom sloniću iz Diznijevog crtača.

Zato Altman D.G i sar. [25] zaključuju da su regresioni modeli

- namenjeni više detekciji prognostičkih faktora koji imaju uticaj na posmatran ishod
- validni su jedino unutar intervala uzoračkih vrednosti posmatranih varijabli
- predikcija na osnovu regresionog modela može rezultirati ozbiljnom zabludom.

Zato **predikciju i ekstrapolaciju treba sprovoditi veoma oprezno**. Ima puno faktora o kojima se mora voditi računa da bi generalizacija ili ekstrapolacija bila validno i bezbedno učinjena.

## 7.12. Pogrešan zaključak II

Ultrazvuk i mamografija (radiografski snimak dojki) predstavljaju neinvazivne dijagnostičke procedure koje se često koriste u prevenciji ili dijagnostici maligniteta dojke, najčešće kod žena. Rezultati nalaza se opisuju kategorijama tzv. Birc-a (eng. BI-RADS<sup>102</sup>) koji u onkološkoj dijagnostici predstavlja meru malignih promena u dojci.

Biopsija, kao vrsta invazivne dijagnostičke metode, jeste neuporedivo pouzdanija od ultrazvuka ili mamografa, ali je neopravdana i nepodobna za primenu u tzv. *skrining programima*, usmerenim ka prevenciji ili otkrivanju ranih stadijuma oveg tipa maligniteta.

**Primer 27.** U jednom segmentu *skrining programa*, sprovedeno preventivno ultrazvučno i mamografsko snimanje dojki kod 60 osoba ženskog pola. Pri tome, ni jedna od njih nije bila prethodno podvrnuta biopsiji te nije bilo moguće registrovati vrednost Birac 6.

Od primarnog interesa za ovo istraživanje bila je učestalost vrednosti Biraca 4 ili 5 (4+5) kao i dilema dijagnostičara da li se učestalosti Biraca 4+5 dijagnostikovanih pomoću ultrazvuka i mamografije značajno razlikuju.

Ultrazvuk vs mamograf		
BI-RADS (4+5)	Mamograf	UZ
Da	42 (70%)	33 (55%)
Ne	18 (30%)	27 (45%)
Ukupno	60 (100%)	60 (100%)

**Pearson  $\chi^2$  test**  
 $\chi^2_1=2.88$ ;  $p=0.09$

Zabeležene frekvencije Biraca 4+5 prikazane su na slici 74. Primenom  $\chi^2$  testa (*Pearson's  $\chi^2$  test*) dobija se  $p=0.09$  te su istraživači zaključili sledeće:

*Nema statistički značajne razlike u učestalosti Biraca 4+5 dijagnostikovanih pomoću ultrazvuka i mamografije.*

Slika 74. Ultrazvuk vs mamografija (1)

Međutim, ovaj zaključak je potpuno pogrešan. Naime, posmatrane grupe podataka nisu nezavisne već zavisne, obzirom da su obe dijagnostičke metode primenjene **nad istim subjektima**. To znači da je umesto  $\chi^2$  testa trebalo izabrati **Mek Nemarov test** (eng. *McNemar test*).

Ultrazvuk vs mamograf			
UZ	Mamograf		
	BI-RADS (4-5)	Da	Ne
UZ	Da	32 (53.33%)	1 (1.67%)
	Ne	10 (16.67%)	17 (28.33%)
	Ukupno	43 (71.67%)	17 (28.33%)

**McNemar test:  $\chi^2_1=5.82$ ;  $p=0.0159$**

Njegovom primenom dobija se  $p=0.0159$  što ukazuje da postoji statistički značajna razlika u nalazima ultrazvuka i mamografa.

Primenjeni test, dobijeni rezultat i prezentovani podaci omogućavaju sledeću interpretaciju: nalaz UZ se razlikuje od nalaza mamografa u 11/60 (18.33%) slučajeva (Slika 75.; suma vrednosti narandžastih polja).

Slika 75. Ultrazvuk vs mamografija (2)

Pri tome, u 10/60 (16.67%) slučajeva nalazom ultrazvuka nije registrovan a nalazom mamografa jeste registrovan Birac 4+5 dok je obrnuto zabeleženo samo kod 1/60 (1.67%) osobe.

<sup>102</sup> BI-RADS akronim od *Breast Imaging-Reporting and Data System*; sistem merenja zaštićen od strane ACR (eng. *American College of Radiology*). Originalno je dizajniran za opis mamografskih nalaza, a kasnijim zajedničkim naporom mnogih zdravstvenih grupa prerastao je u sistem za standardizaciju dijagnostičkih nalaza (dobijenih ultrazvukom, mamografom, skenerom) namenjen uglavnom onkološkim stručnjacima. Vrednosti Birca mogu biti 0: nepotpun nalaz (eng. *Incomplete*); 1: Negativno (*Negative*); 2: Benigni nalaz (eng. *Benign finding*); 3: Verovatno benigno (eng. *Probably benign*); 4: Sumnjičva abnormalnost (eng. *Suspicious abnormality*); 5: Visoko sugestivan malignitet (eng. *Highly suggestive of malignancy*); 6: Poznata biopsija - dokazan malignitet (eng. *Known biopsy – proven malignancy*).

Na ovaj način se dolazi do zaključka da ultrazvuk statistički značajno ređe dijagnostikuje Birac 4+5 u odnosu na mamograf.

Kasnijim poređenjem nalaza ultrazvuka i mamografije sa patohistološkim nalazima (nakon biopsije ili hirurške intervencije), mogla bi se proveriti istinitost prethodnog zaključka (odnosno odrediti tzv. *senzitivnost i specifičnost* i ultrazvuka i mamografije). ■

Prethodni primer ilustruje kako se napažnjom, nedovoljnim poznavanjem problematike biomedicine ili statističke metodologije, mogu izabrati i primeniti neadekvatne statističke metode što za posledicu ima pogrešne zaključke.

Uz to, nezavisnosti ili zavisnosti grupa podataka u biomedicini nije uvek očigledan te u spornim situacijama treba zatražiti objašnjenje od stručnjaka biomedicine.

### 7.13. Problem ekstremnih vrednosti

Kada uzorački podaci potiču iz populacije čija distribucija jeste Gausovska ali poseduju i ekstremno visoke ili niske vrednosti (eng. *outliers*), tada se mogu primeniti odgovarajući neparametarski testovi bazirani na rangovima - jer nisu osetljivi na ekstreme. Dobijene rezultate treba uporediti sa rezultatima parametarskih testova i na taj način proceniti uticaj ekstremnih vrednosti.

### 7.14. Pogrešan zaključak III

Cilj jedne studije je bio ispitivanje dijetalnog efekta izvesnog preparata XX, registrovanog kao dodatak ishrani. Telesna težina učesnika je merena pre početka primene preparata a potom 28 dana kasnije, po prestanku njegove primene. Statističkom analizom je potvrđeno da je prosečna promena telesne težine iznosila 0.5 kg što je bilo statistički signifikantno. Zaključeno je sledeće:

*Kliničkim istraživanjem je potvrđeno da preparat XX, registrovan kao dodatak ishrani, ima značajan dijetalni efekat.*

Ovakva greška je veoma česta u oblasti biomedicine. Kao što je već rečeno, sam termin *značajnost (signifikantnost)* unosi prilično konfuzije u tumačenje statističke i praktične (kliničke, biološke) značajnosti te se statistički značajan rezultat previše često poistovećuje sa praktično značajnim rezultatom. To je potpuno pogrešno jer neki rezultat može biti statistički signifikantan a klinički potpuno beznačajan kao što je slučaj u ovom primeru. Naime, dijetalni efekat nekog preparata se smatra klinički značajnim ukoliko je njegovom primenom tokom 28 dana postignuto prosečno smanjenje telesne težine od najmanje 4 kg.

Zato u komunikaciji sa stručnjacima biomedicine treba posvetiti dovoljno pažnje problemu zaključivanja i razlikovanju statističke/praktične (kliničke, biološke) značajnosti jer njihovo nerazumevanje može rezultirati veoma ozbiljnim greškama pri interpretaciji rezultata i zaključcima.

## 8. RAČUNARSKI PROGRAMI ZA STATISTIČKU ANALIZU

U današnje vreme, sa vrtoglavim napretkom informatičke tehnologije, lako se dolazi do računarskih programa namenjenih statističkoj analizi. Neki od njih su u formi namenskog kalkulatora dostupni preko interneta besplatno (eng. *Free On-line Statistical Calculators*) i omogućavaju dobijanje rezultata na osnovu određene statističke metode. Mnogi drugi računarski programi su kompleksniji i obuhvataju veći broj statističkih metoda (tzv. Statistički paketi) ali se razlikuju po mogućnostima (klase tj. moduli statističkih testova koji su dostupni), težini upotrebe, ceni i sl.

Statistički paketi koji su u čestoj upotrebi su:

### S-PLUS računarski program

- od 2008. godine preuzet od *Tibco software* te je sada poznat pod imenom **TIBCO Spotfire S+**
- za platforme Windows / Linux / UNIX
- na adresi <http://spotfire.tibco.com/> mogu se dobiti preciznije informacije

### R računarski program

- besplatan računarski program namenjen akademskoj upotrebi
- za platforme Windows / Mac / Linux / BSD / UNIX
- na adresi <http://www.r-project.org/> mogu se dobiti preciznije informacije

Programi S+ i R su dosta slični: brzi su, sveobuhvatni, sa kvalitetnom dokumentacijom, imaju odličnu grafiku i proširivi su, odnosno raspolažu obiljem modula namenjenim tačno određenoj vrsti problematike (brojne biblioteke koje sadrže specijalizovane klase statističkih metoda). Oba programa ostavljaju puno prostora korisniku za aktivnu i direktnu komunikaciju putem programiranja (izradom programa tzv. koda – eng. *Code*) ali upravo zbog toga nisu jednostavnii za upotrebu jer zahtevaju od korisnika dobro poznavanje programskih jezika (C, C++, Fortran). Koriste se uglavnom u akademske svrhe i od strane Nacionalnih zdravstvenih instituta (eng. *NIH - National Institutes of Health*).

Češće korišćeni statistički softveri su takođe:

### STATA računarski program

- za platforme Windows / Mac / Linux / UNIX – pogodan za analize epidemioloških istraživanja baziranih na anketama (*EPI friendly*), za razne ukupne proračune i izveštaje, analizu preživljavanja, multvarijantne analize i dijagnostičke testove. Omogućava korisniku aktivnu komunikaciju.
- na adresi <http://www.stata.com/> mogu se dobiti preciznije informacije

### SAS računarski program

- akronim od eng. *Statistical Analysis System*
- za platforme Windows / Linux / UNIX
- integrisan sistem softvera razvijen od strane *SAS Institute Inc.*
- omogućava pronalaženje podataka, upravljanje podacima i *data mining*; generisanje izveštaja; grafičku prezentaciju; statističku analizu; poslovno planiranje, predviđanje i podršku u odlučivanju; istraživanje poslovanja i upravljanje projektima; skladištenje podataka (eng. *data warehousing*) uz mogućnost izdvajanja, transformacije, učitavanja, opterećenja; razvoj aplikacija.
- nezavistan je od platforme, vođen komandama, težak za korišćenje dok se ne savladaju osnovni koncepti. Pored toga, SAS ima brojne poslovne opcije koje omogućavaju široki spektar

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

softverskih rešenja za razne oblasti: IT menadžment, upravljanje ljudskim resursima, finansijsko upravljanje i sl.

- koriste ga velike firme, centri, farmaceutske kompanije i sl. jer je veoma je skup.
- na adresi <http://www.sas.com/> mogu se dobiti preciznije informacije

### **SPSS računarski program**

- akronim od eng. *Statistical Package for the Social Sciences*, kasnije modifikovan naziv u *Statistical Product and Service Solutions*, sada dostupan pod nazivom *IBM SPSS Statistics*
- za platforme Windows / Mac / Linux
- računarski paket za statističku analizu sa modulima za ankete (eng. *IBM SPSS Data Collection*), *data-mining* (*IBM SPSS Modeler*), analitiku teksta, za saradnju i raspoređivanje (eng. *collaboration and deployment - batch and automated scoring services*).
- lagan za upotrebu čak i korisnicima nefamilijarnim sa statistikom, relativno brz, sa kvalitetnom dokumentacijom, nema preterane grafičke mogućnosti,
- raspolaže izvesnim brojem dopunskih modula
- na adresi <http://www-01.ibm.com/software/analytics/spss/> mogu se dobiti preciznije informacije

Pored navedenih, postoje i specijalizovani softveri za proračun obima uzorka / snage studije:

### **PASS računarski program**

- lak za korišćenje, program obezbeđuje proračun obima uzorka (više od 150 statističkih metoda)
- ima kompletну dokumentaciju (uputstva, primeri, reference, formule, validacije kao i kompletna uputstva o svakom postupku)
- na adresi <http://www.ncss.com> mogu se dobiti preciznije informacije

### **NCSS računarski program**

- jednostavan za korišćenje, program obezbeđuje kolekciju od preko 150 alata statističkih i grafičkih namenjenih analizi i vizuelizaciji podataka
- ima kompletну dokumentaciju (uputstva, primeri, reference, formule, validacije kao i kompletna uputstva o svakom postupku)
- na adresi <http://www.ncss.com>; mogu se dobiti preciznije informacije

Do sada pomenutim statističkim paketima nisu obuhvaćeni svi koji postoje na tržištu.

Izbor statističkog softvera nije jednostavan zadatok o čemu govore Altman D.G i sar. [26] te odgovori na sledeća pitanja mogu biti od pomoći:

1. broj i kvalitet statističkih metoda koje su na raspolaganju
2. tačnost, proverenost i testiranost softvera
3. maksimalna količina podataka koja se može analizirati
4. mogućnost manipulacije podacima (kontrola, ispravka, generisanje novih varijabli)
5. sposobnost prihvatanja nedostajućih podataka (eng. *missing values*)
6. jednostavnost upotrebe (eng. *user-friendly*)
7. brzina
8. prateća dokumentacija
9. grafičke mogućnosti
10. kvalitet izlaznih dokumenata (eng. *output*)
11. cena

U zavisnosti od afiniteta, znanja, veština i mogućnosti, treba izabrati statistički paket koji će na najbolji način zadovoljiti većinu potreba korisnika.

## 9. ZAKLJUČAK

Upoznavanje sa statistikom primjenjenom u kliničkim istraživanjima podrazumeva razumevanje značaja, mesta i uloge statistike u toj oblasti. To je veoma važno jer se, po analogiji, mesto i uloga statistike mogu pronaći ne samo u ostalim tipovima istraživanja biomedicine već i šire.

Uz to, pravilnim razumevanjem mesta, uloge i značaja statistike u kliničkim istraživanjima:

- pružaju se smernice za što bezbedniji prolazak svih istraživača kroz različite faze kliničkog ili drugog istraživanja u biomedicini
- podiže se nivo znanja iz oblasti biostatistike i biomedicine čime se omogućava razumevanje procesa dizajniranja istraživanja, što se dalje direktno odražava na minimiziranje raznih grešaka u svim fazama istraživanja
- podiže se nivo međusobne saradnje i razumevanja statističara i biomedicinskih istraživača
- poboljšava se ukupan kvalitet istraživanja u biomedicini
- pojedini problem u praksi, za koje ne postoji adekvatna statistička metodologija, treba da budu dodatne polazne tačke daljeg teorijskog razvoja statističke metodologije i teorije verovatnoće.

Organizovanom, pravilnom i širokom edukacijom biostatističara kao osoba koje poseduju znanja tradicionalne teorije verovatnoće i statistike, specifične statističke metodologije, osnova biomedicine i informatike, uz negovanje njihovih veština u komunikaciji i rukovođenju, moguće je obezbediti dobru kadrovsku osnovu i tako odgovoriti narašlim potrebama za biostatistikom – naučnom disciplinom koja se sve više oslanja na druge oblasti radi obezbeđivanja novih kvantitativnih metoda, koja se sve više širi i koja već ima centralnu ulogu u biomedicinskim istraživanjima.

## 10. LITERATURA

- [1] Indrayan A, Sarmukaddam SB. Medical Biostatistics. Marcel Dekker, Inc., New York, 2001
- [2] Mladenović P. Elementaran uvod u verovatnoću i statistiku (2. Izdanje), Društvo matematičara Srbije, 1998
- [3] Altman DG. Statistics in medical journals, Statistics in Medicine 1: 57-71, 1982.
- [4] Altman DG. Statistics in medical journals: Development in the 1980s, Statistics in Medicine 10: 1897-1913, 1991.
- [5] Altman DG, Bland M. Improving Doctors' Understanding of Statistics. J. R. Statist. Soc. A (1991) 154, Part 2, pp. 223-267
- [6] Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. BMJ 1983; 286:1489-1493
- [7] Bailar JC, Mosteller F. Guidelines for Statistical Reporting in Articles for Medical Journals; Amplifications and Explanations. Annals of Internal Medicine. 1988; 108:266-273.
- [8] Altman DG. The scandal of poor medical research, BMJ 308: 283-84, 1994.
- [9] Altman DG. Statistical reviewing for medical journals, Statistics in Medicine 17: 2661-74, 1998.
- [10] Altman DG, Machin D, Bryant TN & Gardner MJ (Eds), Statistics with Confidence (2nd edition), BMJ: London 2000.
- [11] Begg C, Cho M, Eastwood S, Horton R, Moher D, Olkin I, Pitkin R, Rennie D, Schulz KF, Simel D & Stroup DF. Improving the quality of reporting of randomized controlled trials: the CONSORT statement, Journal of the American Medical Association 276: 266-73, 1996.
- [12] Lang TA & Secic M. How to Report Statistics in Medicine: Annotated Guidelines for Authors, Editors and Reviewers, ACP: Philadelphia 1997.
- [13] Lang TA. 20 Statistical Errors in Biomedical Research Articles, CMJ 2004; 45:361-370.
- [14] International Committee of Medical Journal Editors. [home page on the Internet]. © 2009 [cited 2011 Oct 1]. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. (dostupno na: <http://www.icmje.org/>; preuzeto 10.11.2012.)
- [15] Gavrilović D, Kežić I. Istraživanje, rezultati, tumačenje... i statistika. U: Todorović Lj, Vučković-Dekić Lj (urednici), Komunikacija u biomedicinskim naukama. Kragujevac: M-print, Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu, 2008, str. 70-87
- [16] Kežić I, Gavrilović D. Biostatistika u naučnim istraživanjima. U: Brkić S, Vučković-Dekić Lj, Bogdanović G (urednici), Publikovanje u biomedicini. Naučnoistraživački rad i prezentovanje rezultata istraživanja (4. dopunjeno i prošireno izdanje). Novi Sad: Orthomedics, 2010, e.str. 110-129
- [17] Gavrilovic D, Kežić I, Vukomanovic A. Statistička metodologija u fizijatriji: Analiza preživljavanja – bolji uvid u podatke. XIII kongres fizijatara Srbije (21-24. maj 2008). Balneoclimatologia, Vol 32 (Supl. 1), 87-89; U2v; 2008
- [18] Marušić M. Planiranje istraživanja. U: Marušić M, ured. Uvod u znanstveni rad u medicini (3. izdanje). Zagreb: Medicinska naklada 2004: str. 48-56.
- [19] Grčević D. Prikupljanje podataka i mjerjenje. U: Marušić M, ured. Uvod u znanstveni rad u medicini (3. izdanje). Zagreb: Medicinska naklada 2004: str. 57-68.
- [20] Vučković-Dekić Lj, Milenković P. (urednici) Etika naučnoistraživačkog rada u biomedicini (II dopunjeno i prošireno izdanje). Medicinski fakultet u Beogradu: KAM-GRAF, 2004.
- [21] Radulović S. Good Clinical Practice- International Quality Standard for Clinical Trials. Stom Glas S, 2003; Vol 50: str. 34-38
- [22] Hill A.B. Medical Ethics and Controlled Trials. British Medical Journal 1963, 1043-1049

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

- [23] Pocock S.J., Clinical Trials: A Practical Approach, John Wiley & Sons, New York, 1983.
- [24] Guidelines for Good Clinical Practice, ICH Tripartite Guideline, IFPMA, 1996
- [25] Altman DG, Bland JM. Generalisation and extrapolation; BMJ 1998;317:409-410
- [26] Altman DG. Practical statistics for medical research. Chapman & Hall, 1991.
- [27] StatSoft on-line textbook: <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>.
- [28] Platt JR. Certain systematic methods of scientific thinking may produce much more rapid progress than others. Science, 1964, Volume 146, Number 3642., p350
- [29] Nurminen M. Statistical significance -- a misconstrued notion in medical research. Scandinavian Journal of Work Environment and Health 1997;23(3):232-5
- [30] Goodman S. A Dirty Dozen: Twelve P-value misconceptions. *Semin Hematol* 2008; 45(3):135–140
- [31] Altman DG. Size Of Clinical Trials. British Medical Journal (Clinical Research Edition), Vol. 286, No. 6381; 1983, pp. 1842-1843
- [32] Fleiss J. L. Statistical Methods for Rates and Proportions, Wiley, New York, 1981.
- [33] Simon R. Optimal two-stage designs for Phase II clinical trials; Controlled Clinical Trials 1989; 10: 1-10
- [34] ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials; (dostupno na: <http://www.ich.org/products/guidelines/efficacy/article/efficacy-guidelines.html>; preuzeto 10.11.2012.)
- [35] Bowers D. Medical Statistics from scratch. John Wiley and Sons Ltd, 2002
- [36] Udovičić M., Baždarić K., Bilić-Zulle L., Petrovečki M. Što treba znati kada izračunavamo koeficijent korelacije? Biochimia Medica 2007;17(1):10-5 (dostupno na: <http://biochimia-medica.com/content/s-treba-znati-kada-izracunavamo-koeficijent-korelacije>; preuzeto 3.12.2012.)
- [37] Bland M. Introduction to medical statistics. Oxford Univ. Press, 2000, chapter 17
- [38] Landis, J.R.; & Koch, G.G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977; 33 (1): 159–174.
- [39] Fleiss, J.L. Statistical methods for rates and proportions (2nd ed.). New York: John Wiley, 1981
- [40] Wicklin R. The role of statistics in the top public health achievements of the 20th century, (dostupno na: <http://blogs.sas.com/content/iml/2013/04/15/top-public-health-achievements/>; preuzeto 27.04.2013.)
- [41] GraphPad Statistics Guide (dostupno na: <http://www.graphpad.com/guides/prism/6/statistics/>; preuzeto 31.8.2013.)

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

**11. PRILOG - (Preuzeto 20.11.2012. Dostupno na:[http://en.wikipedia.org/wiki/Comparison\\_of\\_statistical\\_packages](http://en.wikipedia.org/wiki/Comparison_of_statistical_packages))**

Product	Developer	Latest version	Cost (USD)	Open source	Software license	Interface	Written in	Scripting languages
<a href="#"><u>ADaMSoft</u></a>	Marco Scarno	May 5, 2012	Free	Yes	<a href="#">GNU GPL</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>	<a href="#">Java</a>	
<a href="#"><u>Analyse-it</u></a>	Analyse-it		\$185–495	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>		
<a href="#"><u>ASReml</u></a>	VSN International	October 2009	>\$150	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI</a>		
<a href="#"><u>BMDP</u></a>	Statistical Solutions		\$1095	No	<a href="#">Proprietary</a>			
<a href="#"><u>Dataplot</u></a>	Alan Heckert	March 2005	Free	Yes	<a href="#">Public domain</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>Epi Info</u></a>	Centers for Disease Control and Prevention	January 26, 2011	Free	Yes	<a href="#">Public domain</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>	Visual Basic	
<a href="#"><u>EViews</u></a>	IHS	November 2011	student: \$40 / acad: \$425 / comm: \$1075	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>GAUSS</u></a>	Aptech systems	October 2011		No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>GenStat</u></a>	VSN International	July 2011	>\$190	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>GraphPad Prism</u></a>	GraphPad Software, Inc.	Feb. 2009	\$595	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>		
<a href="#"><u>gretl</u></a>	The gretl Team	June 1, 2012	Free	Yes	<a href="#">GNU GPL</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>	C	
<a href="#"><u>JMP</u></a>	SAS Institute	October, 2010	\$1895 (commercial) \$29.95/\$49.95 (student) \$495 for H.S. site licence	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI/CLI</a>		JSL (JMP Scripting Language)
<a href="#"><u>Maple</u></a>	Maplesoft	March 28, 2012	\$2275 (commercial), \$99 (student)	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>Mathematica</u></a>	Wolfram Research	8.0.4, October 2011	\$2,495 (Professional), \$1095 (Education), \$140 (Student), \$69.95 (Student annual license) <sup>[2]</sup> \$295 (Personal) <sup>[4]</sup>	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>MATLAB</u></a>	MathWorks	New releases twice per year	\$2150 (commercial), \$99 (student), toolboxes additional	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>MedCalc</u></a>	MedCalc Software bvba	November 14, 2010	\$395	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>		
<a href="#"><u>Minitab</u></a>	Minitab Inc.	May 18, 2010	\$895–\$1395 <sup>[2]</sup> perpetual, \$542 or less concurrent annual, \$29.99/\$49.99/\$99.99 academic	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>NCSS</u></a>	NCSS, LLC	December 1, 2007	\$495 <sup>[2]</sup> acad., \$795 comm.	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>		
<a href="#"><u>NMath Stats</u></a>	CenterSpace Software	November 2009	(\$1295) <sup>[2]</sup>	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI</a>		
<a href="#"><u>NumXL</u></a>	Spider Financial	October 2009	\$150 (commercial) <sup>[2]</sup> , \$50 (student)	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>	C++, VBA	
<a href="#"><u>OpenEpi</u></a>	A. Dean, K. Sullivan, M. Soe	June 23, 2011	Free	Yes	<a href="#">GNU GPL</a>	<a href="#">GUI</a>	JavaScript, HTML	
<a href="#"><u>Origin</u></a>	OriginLab	November, 2011	student: \$50 / acad: \$550 / comm: \$1095	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>	C++	Labtalk
<a href="#"><u>Ox programming language</u></a>	OxMetrics, J.A. Doornik	August 2011	Free for Academic use	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI</a>		
<a href="#"><u>OxMetrics</u></a>	OxMetrics, J.A. Doornik	August 2011	student or academic use: licensed commercial use: \$500 and over	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">CLI/GUI</a>		
<a href="#"><u>Primer</u></a>	Primer-E	February 2007	\$500–\$1000	No	<a href="#">Proprietary</a>	<a href="#">GUI</a>		

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Product	Developer	Latest version	Cost (USD)	Open source	Software license	Interface	Written in	Scripting languages
<u><a href="#">PSPP</a></u>	<u><a href="#">GNU Project</a></u>	February 4, 2012	Free	Yes	<u><a href="#">GNU GPL</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>	C	<u><a href="#">Perl (by PSPP-Perl<sup>[5]</sup>)</a></u>
<u><a href="#">R</a></u>	R Foundation	April 13, 2011	Free	Yes	<u><a href="#">GNU GPL</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI<sup>[6]</sup></a></u>	C	<u><a href="#">Python (by RPy)</a></u> , <u><a href="#">Perl (by Statistics::R module)</a></u>
<u><a href="#">Revolution Analytics</a></u>	Norman Nie	2007	Academic version (Free), Professional edition license fee	Yes	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>		
<u><a href="#">RATS</a></u>	Estima	October 1, 2010	\$500	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>		
<u><a href="#">ROOT</a></u>	ROOT Analysis Framework	June 30, 2010	Free	Yes	<u><a href="#">GNU GPL</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>	C++	C++, Python
<u><a href="#">SAGE</a></u>	>100 developers worldwide	4.5.2, August 2010	Free	Yes	<u><a href="#">GNU GPL</a></u>	<u><a href="#">CLI &amp; GUI</a></u>	Python, Cython	Python, SQL, Java, .NET, C++, FORTRAN
<u><a href="#">Salstat</a></u>	Alan J. Salmoni, Mark Livingstone	2004	Free	Yes	<u><a href="#">GNU GPL</a></u>	<u><a href="#">CLI &amp; GUI</a></u>	<u><a href="#">Python, NumPy, Scipy</a></u>	Python
<u><a href="#">SAS</a></u>	<u><a href="#">SAS Institute</a></u>	December 2011	~\$6000 per seat (PC version) / ~\$28K per processor (Windows server) first-year fees for BASE, STAT, GRAPH, and ACCESS modules. Modules are licensed individually. Subsequent year fees are roughly half. <sup>[2]</sup>	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>		
<u><a href="#">SHAZAM</a></u>	SHAZAM Analytics Ltd	June 2012	Academic (Single): Student \$49 / Standard \$249 / Professional \$495 Academic (Site): Standard \$1600 / Professional \$2100	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>	FORTRAN, C++, C	
<u><a href="#">SigmaXL</a></u>	SigmaXL Inc.	January 18, 2011	\$249 perpetual license	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
<u><a href="#">SOCR</a></u>	<u><a href="#">UCLA</a></u>	October 28, 2008	Free	Yes	<u><a href="#">LGPL</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>	Java	
<u><a href="#">SOFA Statistics</a></u>	Grant Paton-Simpson	April 2010	Free	Yes	<u><a href="#">AGPL</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
<u><a href="#">SPPlus</a></u>	Insightful Inc.	2010	\$2399/year	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI</a></u>		
<u><a href="#">SPSS</a></u>	<u><a href="#">IBM</a></u>	2011	\$4975 <sup>[2]</sup>	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>	Java	Python, <u><a href="#">SaxBasic</a></u>
<u><a href="#">Stata</a></u>	<u><a href="#">StataCorp</a></u>	July 2011	academic starting at \$595 <sup>[2]</sup> / industry starting at \$1,195	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>	C	ado, mata
<u><a href="#">Statgraphics</a></u>	StatPoint	October, 2009	\$695 – \$1495	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
<u><a href="#">STATISTICA</a></u>	StatSoft	November, 2010	>\$695	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
<u><a href="#">StatPlus</a></u>	AnalystSoft	January 7, 2007	\$150 <sup>[1][2]</sup>	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
<u><a href="#">SYSTAT</a></u>	Systat Software Inc.	February 21, 2007	\$1299	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>		
<u><a href="#">TSP</a></u>	TSP International	September 2009	student: \$120 / academic: \$600 / commercial: \$1200	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI</a></u>	Fortran	
<u><a href="#">UNISTAT</a></u>	Unistat Ltd	April 8, 2011	\$895, \$495, \$300	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI, Excel</a></u>		
<u><a href="#">Winpepi</a></u>	J. H. Abramson	June 2008	Free	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
<u><a href="#">WPS</a></u>	World Programming	February 2012	\$	No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">CLI/GUI</a></u>	C, Assmebler	<u><a href="#">SAS language</a></u>
<u><a href="#">XploRe</a></u>	MD*Tech	2006		No	<u><a href="#">Proprietary</a></u>	<u><a href="#">GUI</a></u>		
Product	Developer	Latest version	Cost (USD)	Open source	Software license	Interface		

## Operating system support

<u>Product</u>	<u>Windows</u>	<u>Mac OS</u>	<u>Linux</u>	<u>BSD</u>	<u>Unix</u>
<u>ADaMSoft</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Analyse-it</u>	Yes	No	No	No	No
<u>BMDP</u>	Yes				
<u>Dataplot</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Epi Info</u>	Yes	No	No	No	No
<u>EViews</u>	Yes	Yes	No	No	No
<u>GAUSS</u>	Yes	Yes	Yes	No	Yes
<u>GraphPad Prism</u>	Yes	Yes	No	No	No
<u>gretl</u>	Yes	Yes	Yes	No	No
<u>JMP</u>	Yes	Yes	Yes	No	No
<u>JHepWork</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Maple</u>	Yes	Yes	Yes	?	Yes
<u>MATLAB</u>	Yes	Yes	Yes	No	No
<u>Mathematica</u>	Yes	Yes	Yes	No	Yes
<u>MedCalc</u>	Yes	No	No	No	No
<u>Minitab</u>	Yes	Terminated	No	No	No
<u>NCSS</u>	Yes	No	No	No	No
<u>NMath Stats</u>	Yes	No	No	No	No
<u>NumXL</u>	Yes	No	No	No	No
<u>OpenEpi</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Origin</u>	Yes	No	No	No	No
<u>Primer</u>	Yes	No	No	No	No
<u>PSPP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>R Commander</u>	Yes <sup>14</sup>	Yes <sup>14</sup>	Yes <sup>14</sup>	Yes <sup>14</sup>	Yes
<u>R</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>RATS</u>	Yes	Yes	Yes	No	Yes
<u>RKWard</u>	Yes	No	Yes	No	Yes
<u>ROOT</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Sage</u>	Partial	Yes	Yes	No	Yes
<u>Salstat</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SAS</u>	Yes	Terminated	Yes	No	Yes
<u>SHAZAM</u>	Yes	No	No	No	No
<u>SigmaXL</u>	Yes	No	No	No	No
<u>SOCR</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SOFA Statistics</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SPlus</u>	Yes	No	Yes	No	Yes
<u>SPSS</u>	Yes	Yes	Yes	No	No
<u>Stata</u>	Yes	Yes	Yes	No	Yes
<u>Statgraphics</u>	Yes	No	No	No	No
<u>STATISTICA</u>	Yes	No	No	No	No
<u>StatPlus</u>	Yes	Yes	No	No	No
<u>SYSTAT</u>	Yes	No	No	No	No
<u>TSP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>UNISTAT</u>	Yes	No	No	No	No
<u>The Unscrambler</u>	Yes	No	No	No	No
<u>Winpepi</u>	Yes	No	No	No	No
<u>WPS</u>	Yes	Yes	Yes	No	Yes
<u>XploRe</u>	Yes	No	Yes	No	Yes
<u>Product</u>	<u>Windows</u>	<u>Mac OS</u>	<u>Linux</u>	<u>BSD</u>	<u>Unix</u>

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
 Dušica V. Gavrilović

Support for various ANOVA methods

Product	One-way	Two-way	<u>MANOVA</u>	<u>GLM</u>	<u>Mixed model</u>	<u>Post-hoc</u>	<u>Latin squares</u>
<u>ADaMSoft</u>	Yes	Yes	No	No	No	No	No
<u>Analyse-it</u>	Yes	Yes	No	No	Yes	No	No
<u>BMDP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	
<u>Epi Info</u>	Yes	Yes	No	No	No	No	No
<u>EViews</u>	Yes						
<u>GAUSS</u>		No	No	No		No	No
<u>GenStat</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>GraphPad Prism</u>	Yes	Yes	No	No		Yes	No
<u>gretl</u>							
<u>JMP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>Mathematica</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	No
<u>MATLAB+Statistics Toolbox</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>MedCalc</u>	Yes	Yes	No	Yes		Yes	No
<u>Minitab</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>NCSS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>NMath Stats</u>	Yes	Yes	No	No		No	No
<u>Origin</u>	Yes	Yes	No	No		Yes	No
<u>PSPP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>R</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>R Commander</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>Sage</u>	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes	
<u>Salstat</u>	Yes	No	No	No		No	No
<u>SAS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SHAZAM</u>	Yes	Yes	No	Yes		Yes	No
<u>SigmaXL</u>	Yes	Yes	No	No			No
<u>SOCR</u>	Yes	Yes	No	No		Yes	Yes
<u>SOFA Statistics</u>	Yes	No	No	No		No	No
<u>Stata</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes
<u>Statgraphics</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>STATISTICA</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>StatPlus</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>SPlus</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>SPSS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>SYSTAT</u>	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>TSP</u>	No	No	No	No		No	No
<u>UNISTAT</u>	Yes	Yes	No	Yes		Yes	Yes
<u>The Unscrambler</u>	Yes	No	No	No		No	No
<u>Winpepi</u>	Yes	Yes	No	No		No	No
<u>WPS</u>	Yes	No	No	Yes		Yes	Yes
Product	One-way	Two-way	<u>MANOVA</u>	<u>GLM</u>	<u>Mixed model</u>	<u>Post-hoc</u>	<u>Latin squares</u>

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Support for various regression methods.

Product	<u>OLS</u>	<u>WLS</u>	<u>2SLS</u>	<u>NLLS</u>	<u>Logistic</u>	<u>GLM</u>	<u>LAD</u>	<u>Stepwise</u>	<u>Quantile</u>	<u>Probit</u>	<u>Cox</u>	<u>Poisson</u>	<u>MLR</u>
<u>ADaMSoft</u>	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	No	Yes					
<u>Analyse-it</u>	Yes												
<u>BMDP</u>	Yes				Yes			Yes			Yes		
<u>Epi Info</u>	Yes	No	No	No	Yes	No	No	No					
<u>EViews</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>GAUSS</u>								No		No			
<u>GenStat</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>GraphPad Prism</u>	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	No	No	No		No	Yes
<u>gretl</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	
<u>JMP</u>	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes		Yes	Yes
<u>Mathematica</u>	Yes	Yes		Yes	Yes <sup>[8]</sup>	Yes <sup>[9]</sup>	Yes <sup>[10]</sup>		Yes	Yes <sup>[11]</sup>		Yes	Yes <sup>[12]</sup>
<u>MATLAB+Statistics Toolbox</u>	Yes	Yes	Yes <sup>[13]</sup>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes	Yes	Yes
<u>MedCalc</u>	Yes	No	No	Yes	Yes	No	No	Yes					
<u>Minitab</u>	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	No	Yes	No				
<u>NCSS</u>	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>NMath Stats</u>	Yes	Yes		Yes									Yes
<u>Origin</u>													
<u>PSPP</u>	Yes												
<u>R</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>R Commander</u> <sup>[14]</sup>	Yes				Yes				No				
<u>RATS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>Sage</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	
<u>Salstat</u>	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No		No	No
<u>SAS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SHAZAM</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>SigmaXL</u>	Yes				Yes								Yes
<u>SOCR</u>	Yes	No	No	No	Yes	No	No	No					
<u>SPlus</u>	Yes			Yes	Yes	Yes		Yes	Yes				
<u>SPSS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No				
<u>Stata</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Statgraphics</u>	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>STATISTICA</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No				
<u>StatPlus</u>	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes					
<u>SYSTAT</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No				
<u>TSP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes		Yes	Yes
<u>UNISTAT</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes		Yes		Yes	
<u>The Unscrambler</u>													
<u>Winpepi</u>	Yes				Yes					Yes		Yes	Yes
<u>WPS</u>	Yes	Yes			Yes	Yes		Yes					Yes
Product	<u>OLS</u>	<u>WLS</u>	<u>2SLS</u>	<u>NLLS</u>	<u>Logistic</u>	<u>GLM</u>	<u>LAD</u>	<u>Stepwise</u>	<u>Quantile</u>	<u>Probit</u>	<u>Cox</u>	<u>Poisson</u>	<u>MLR</u>

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
 Dušica V. Gavrilović

Support for various time series analysis methods.

Product	<u>ARIMA</u>	<u>GARCH</u>	<u>Unit root test</u>	<u>Cointegration test</u>	<u>VAR</u>	<u>Multivariate GARCH</u>
<u>Analyse-it</u>						
<u>BMDP</u>	Yes					
<u>EViews</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>GAUSS</u>	Yes	Yes			Yes	Yes
<u>GraphPad Prism</u>	No	No	No	No	No	
<u>gretl</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	
<u>JMP</u>	Yes					
<u>Mathematica</u>	Yes	Yes		Yes		
<u>MATLAB+Econometrics Toolbox</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	
<u>MedCalc</u>	No	No	No	No	No	
<u>Minitab</u>	Yes	No	No	No	No	
<u>NCSS</u>	Yes					
<u>NumXL</u>	Yes	Yes	Yes			
<u>NMath Stats</u>						
<u>Origin</u>						
<u>PSPP</u>						
<u>R</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>R Commander</u> <sup>[14]</sup>						
<u>RATS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Sage</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Salstat</u>	No	No	No	No	No	No
<u>SAS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SHAZAM</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
<u>SOCR</u>	No	No	No	No	No	
<u>Stata</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Statgraphics</u>	Yes	No	No	No	No	
<u>STATISTICA</u>	Yes	No	No	No	No	
<u>StatPlus</u>	Yes	No	No	No	No	
<u>SPlus</u>		Yes			Yes	
<u>SPSS</u>	Yes					
<u>SYSTAT</u>	Yes					
<u>TSP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
<u>UNISTAT</u>	Yes	No	No	No	No	
<u>Winpepi</u>						
<u>WPS</u>						
Product	<u>ARIMA</u>	<u>GARCH</u>	<u>Unit root test</u>	<u>Cointegration test</u>	<u>VAR</u>	<u>Multivariate GARCH</u>

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Support for various statistical charts and diagrams.

Chart	<u>Bar chart</u>	<u>Box plot</u>	<u>Correlogram</u>	<u>Histogram</u>	<u>Line chart</u>	<u>Scatterplot</u>
<u>ADaMSoft</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Analyse-it</u>						
<u>BMDP</u>				Yes		Yes
<u>Epi Info</u>	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes
<u>EViews</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>GAUSS</u>	Yes	Yes		Yes	Yes	Yes
<u>GenStat</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>GraphPad Prism</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>gretl</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>JMP</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Mathematica</u>	Yes <sup>[15]</sup>	Yes <sup>[16]</sup>		Yes <sup>[17]</sup>	Yes <sup>[18]</sup>	Yes <sup>[19][20]</sup>
<u>MATLAB+Statistics Toolbox</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>MedCalc</u>	Yes	Yes		Yes	Yes	Yes
<u>Minitab</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>NCSS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>NMath Stats</u>						
<u>Origin</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>PSPP</u>						
<u>R</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>R Commander</u>						
<u>RATS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Sage</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SAS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SHAZAM</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SigmaXL</u>	Yes	Yes		Yes	Yes	Yes
<u>SOCR</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Stata</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>Statgraphics</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>STATISTICA</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>StatPlus</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SPlus</u>						
<u>SPSS</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>SYSTAT</u>						
<u>TSP</u>	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>UNISTAT</u>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<u>The Unscrambler</u>	Yes			Yes	Yes	Yes
<u>Winpepi</u>					Yes	Yes
<u>WPS</u>	Yes				Yes	Yes
Chart	<u>Bar chart</u>	<u>Box plot</u>	<u>Correlogram</u>	<u>Histogram</u>	<u>Line chart</u>	<u>Scatterplot</u>

Primena statistike u kliničkim istraživanjima sa osvrtom na korišćenje računarskih programa  
Dušica V. Gavrilović

Product	s/w type <sup>[21]</sup>	Descriptive statistics		Nonparametric statistics		Quality control	Survival analysis			Data processing	
		Base stat. <sup>[22]</sup>	Normality tests <sup>[23]</sup>	CTA <sup>[24]</sup>	Nonparametric comparison, ANOVA			Cluster analysis	Discriminant analysis	BDP <sup>[25]</sup>	Ext. <sup>[26]</sup>
<u>ADaMSoft</u>	S	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
<u>Analyse-it</u>	X	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
<u>BMDP</u>		+	+	+	+		+	+	+		
<u>Epi Info</u>	S	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+
<u>Gauss</u>	St	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<u>GenStat</u>	St	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>GraphPad Prism</u>	S	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
<u>JMP</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Mathematica</u>	S	+	+	+	+	-	+ <sup>[27]</sup>	+	-	+	+
<u>MATLAB+Statistics Toolbox</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>MedCalc</u>	S	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<u>Minitab</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>NCSS</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>NMath Stats</u>	S	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<u>OpenEpi</u>	S	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<u>Origin</u>	S	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<u>PSPP</u>	S	+	+								
<u>R</u>	St	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>RATS</u>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
<u>SAS</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>SHAZAM</u>	S	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<u>SigmaXL</u>	X	+	+	+	+	+	+				
<u>SOCR</u>	S	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
<u>SOFA Statistics</u>	S		-	+	+	-	-	-	-	-	-
<u>Stata</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>Statgraphics</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>STATISTICA</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>StatPlus</u>	S	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<u>SPlus</u>	St	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>SPSS</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>SYSTAT</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>TSP</u>	S	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<u>UNISTAT</u>	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>The Unscrambler</u>	S	+	+								
<u>Winpepi</u>	S	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
<u>WPS</u>	S	+			+			+		+	+
Product	s/w type <sup>[21]</sup>	Descriptive statistics		Nonparametric statistics		Quality control	Survival analysis			Data processing	
		Base stat. <sup>[22]</sup>	Normality tests <sup>[23]</sup>	CTA <sup>[24]</sup>	Nonparametric comparison, ANOVA			Cluster analysis	Discriminant analysis	BDP <sup>[25]</sup>	Ext. <sup>[26]</sup>