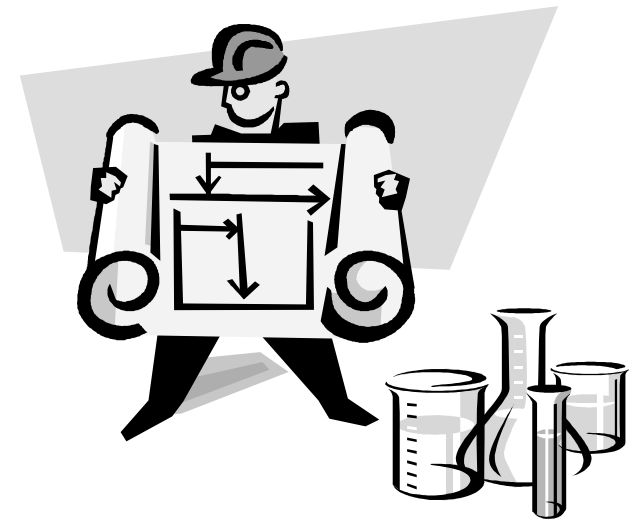


LEZIONI DI STATISTICA MEDICA

Lezione n.12

- Il Disegno Sperimentale



*Sezione di Epidemiologia & Statistica Medica
Università degli Studi di Verona*

ESPERIMENTO

■ SCOPO

valutare gli effetti dei cambiamenti in una **variabile indipendente** (dose, trattamento) su una **variabile dipendente**

esempio: valutazione degli effetti di una data dieta sull'accrescimento ponderale dei ratti



Definizioni:

- **Unità sperimentali:** unità biologiche su cui si effettuano le misurazioni (*pazienti, animali, organi*)
- **Trattamenti:** diverse sostanze o dosi della stessa sostanza a cui sono sottoposte le unità sperimentali
- **Variabile di risposta:** variabile misurata sulle unità sperimentali e su cui si valuta l'effetto del trattamento

Disegno dell'esperimento

- Scelta dei trattamenti
- Scelta delle unità sperimentali
- Assegnazione delle unità sperimentali ai trattamenti
- Misurazione delle variabile di risposta



Un buon disegno sperimentale deve garantire:

- la validità interna (assenza di errori sistematici)
- precisione e potenza dello studio
- la validità esterna

L'esperimento più semplice

Trattamento

Y_{11}

Y_{12}

...

Y_{1n}

\bar{Y}_1

Controllo

Y_{01}

Y_{02}

...

Y_{0n}

\bar{Y}_0

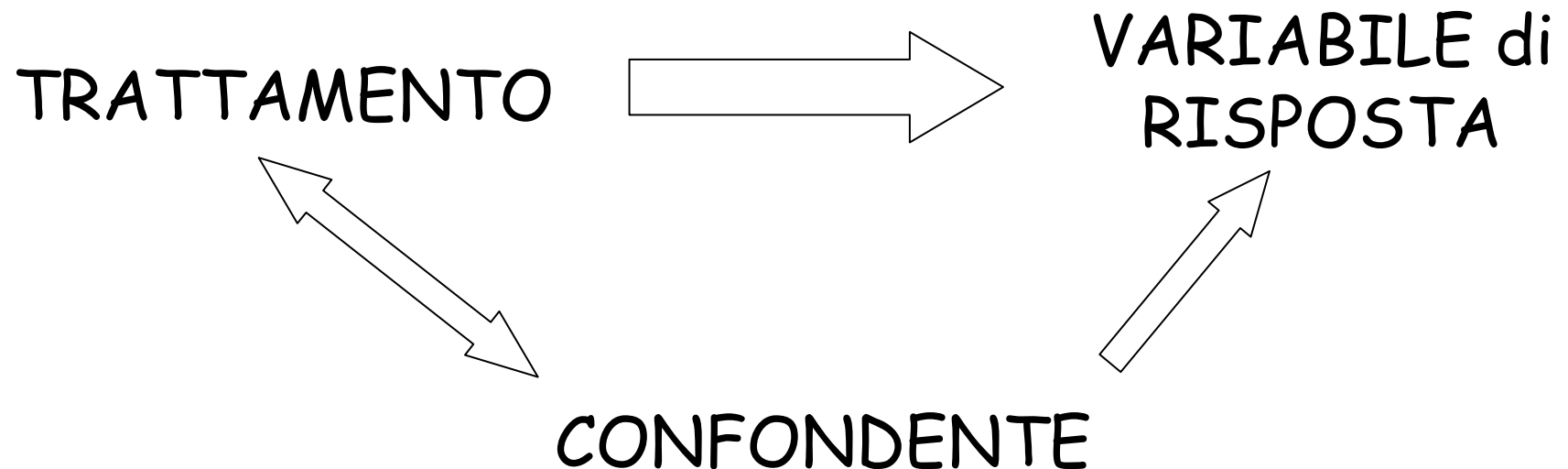
$$\text{effetto del trattamento} = \bar{Y}_1 - \bar{Y}_0$$

Assenza di Errori Sistematici (I)

- L'assegnazione delle unità sperimentali ai trattamenti deve essere tale da garantire che i gruppi a confronto si differenzino solo per il trattamento
- Se il trattamento non avesse effetto, ci attenderemmo per la variabile di risposta la stessa media nei gruppi a confronto

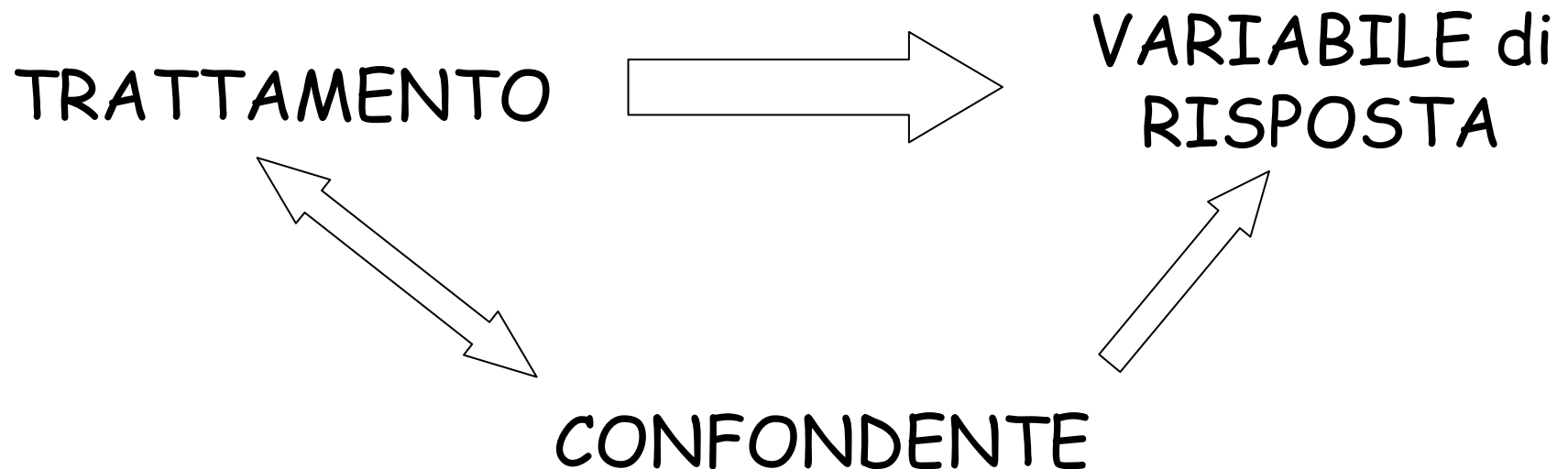
CONFONDENTE

- Ogni determinante della variabile di risposta diverso dal trattamento è un **potenziale confondente** della stima dell'effetto in studio



CONFONDENTE

- Se il potenziale confondente è sbilanciato nei gruppi a confronto esso è un **effettivo confondente** e la stima dell'effetto è *distorta* (= *affetta da bias*)



Esempio: trattamento=controllo

maschi
 $\mu = 120$ u

80%

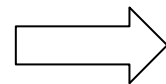
TRATTAMENTO
media = 116 u

femmine
 $\mu = 100$ u

80%

CONTROLLO
media = 104 u

stima dell'effetto = 12 u

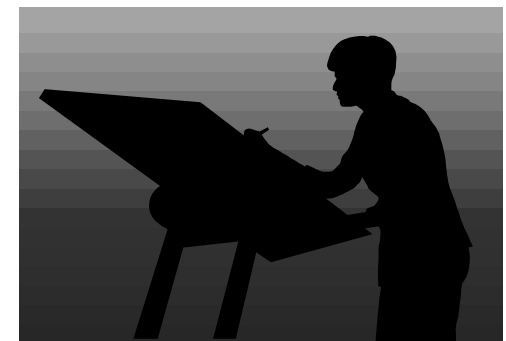


la stima è *biased*,
perché il sesso agisce
da confondente

Assenza di Errori Sistematici (I)

- I risultati di un esperimento sono **non distorti** se il disegno sperimentale garantisce il **controllo** o il **bilanciamento** di tutti i potenziali confondenti, noti o ignoti
- Il metodo principale per il controllo dei confondenti (soprattutto quelli ignoti) è la **randomizzazione**

altri metodi sono l'appaiamento, il bloccaggio e l'analisi stratificata



RANDOMIZATION TO PRODUCE EQUIVALENT GROUPS

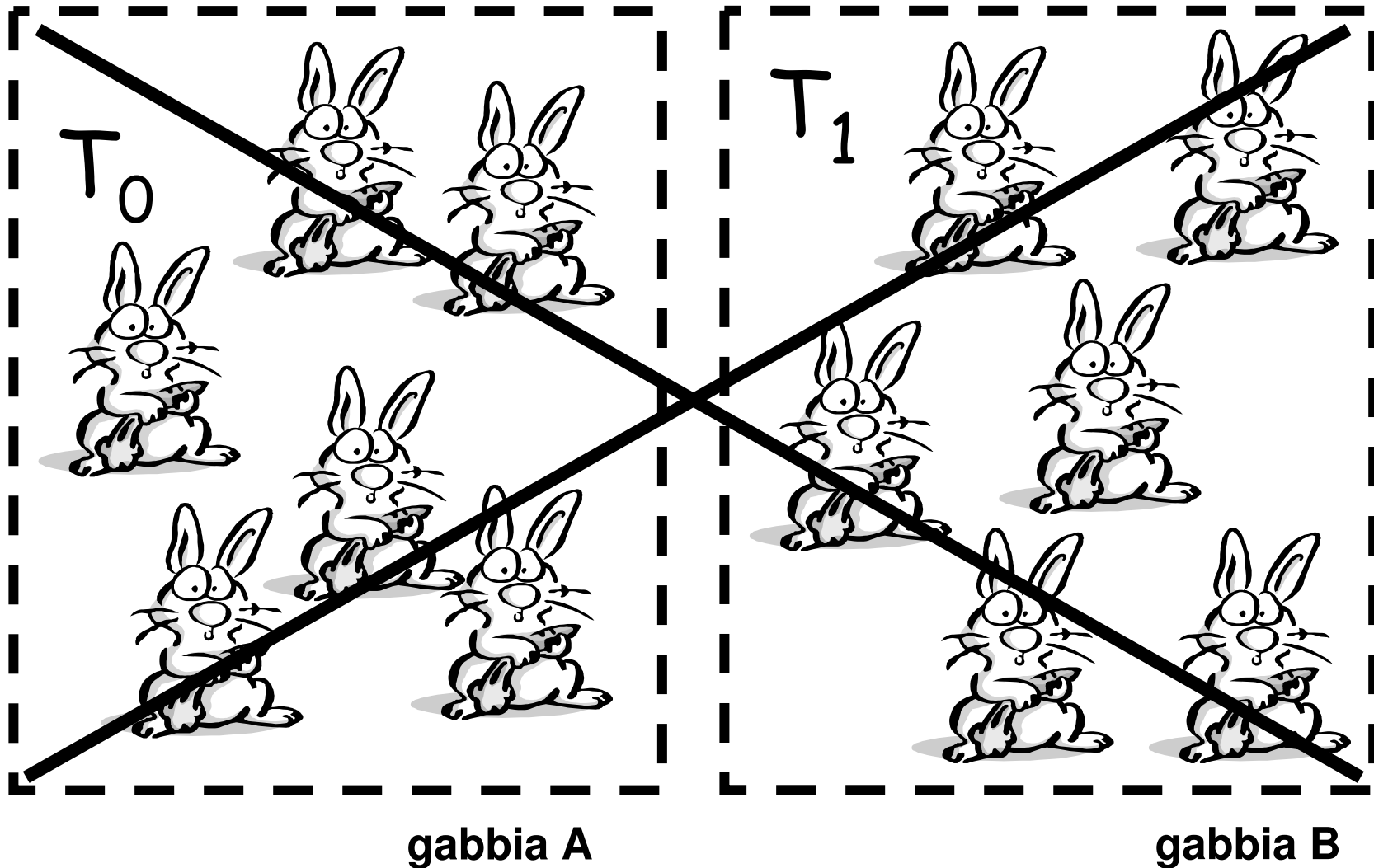
	Randomized to home care n = 132 % of subjects	Randomized to hospital care n = 132 % of subjects
Male	79	75
Previous infarction	28	25
Previous angina	33	33
ECG pattern:		
recent anterior change	17	17
recent inferior change	14	13
unhelpful	55	61
normal	14	9
ECG rhythm:		
with ectopics	11	6
other dysrhythmias	4	7
Treatment given before randomization		
analgesia	77	77
anti-cardiac failure	11	8
anti-dysrhythmia	11	5
digoxin	2	1
Mean age (years)	58.6	59.9

Assenza di Errori Sistematici (II)

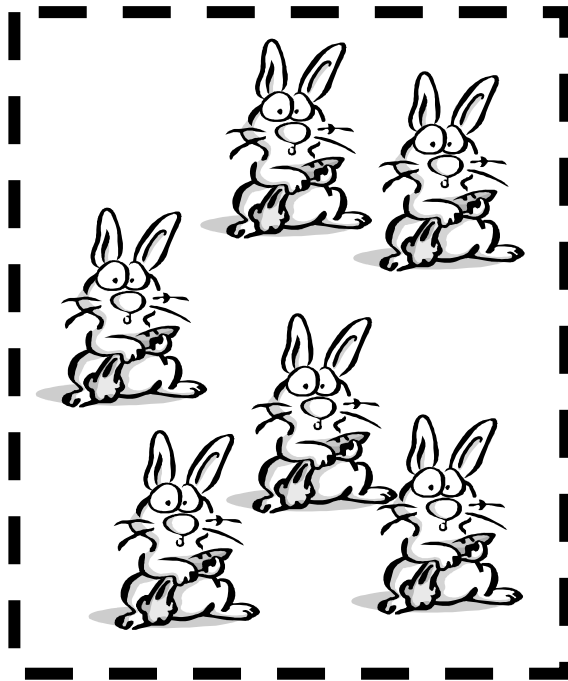
- Il disegno sperimentale deve garantire che i valori assunti dalla variabile di risposta su un'unità sperimentale siano indipendenti da quelli ottenuti su un'altra unità sperimentale (**indipendenza delle osservazioni**)



assegnazione delle unità ai due
trattamenti (T_0 e T_1)

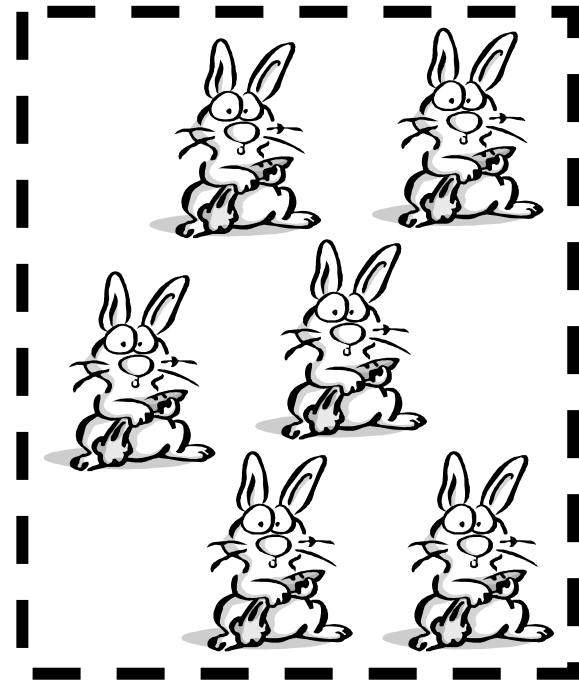


assegnazione delle unità ai due trattamenti (T_0 e T_1)



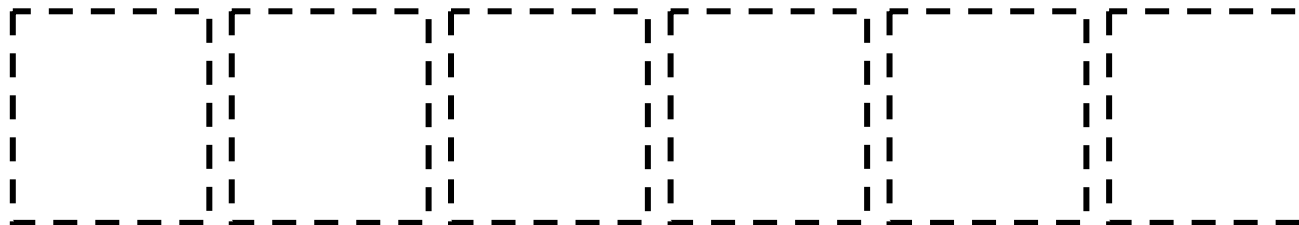
gabbia A

randomizzazione

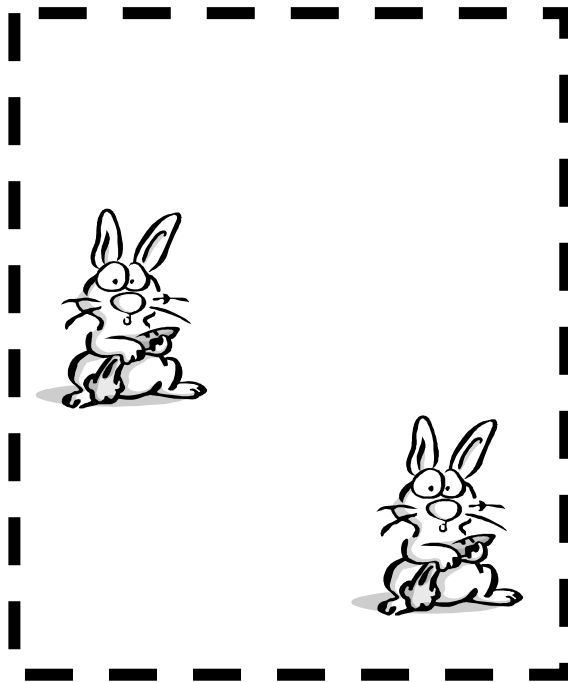


gabbia B

T_0

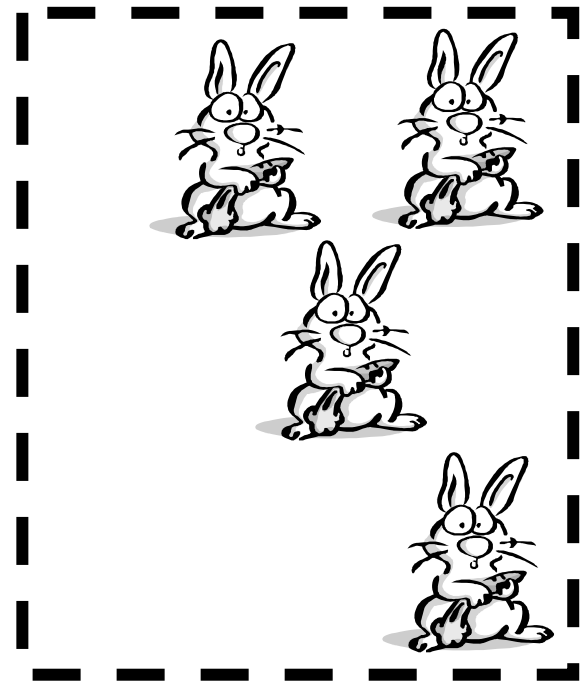


assegnazione delle unità ai due trattamenti (T_0 e T_1)



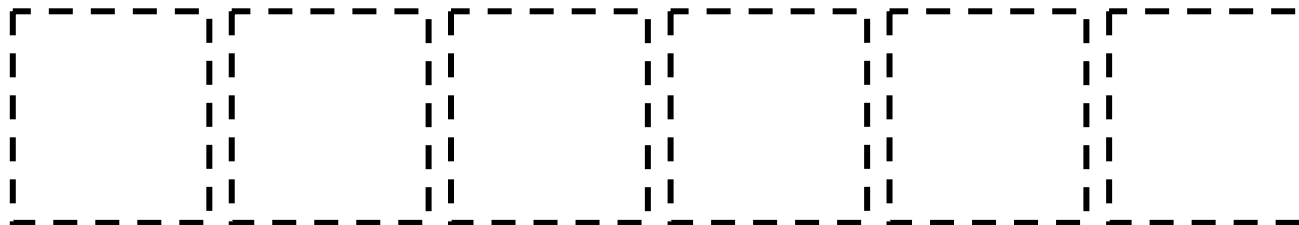
gabbia A

randomizzazione



gabbia B

T_1



Assenza di Errori Sistematici (III)

Nelle sperimentazioni sull'uomo l'assenza di errori sistematici nel confronto tra i gruppi viene inoltre garantita dall'utilizzo di:

- **placebo**: confrontabilità degli *effetti*
- **cecità**: confrontabilità delle *informazioni*

Precisione e Potenza di un disegno sperimentale

■ PRECISIONE

Grado d'errore che influenza la stima dell'effetto ottenuta dai dati sperimentali

■ POTENZA

Probabilità di dichiarare statisticamente significativa la differenza tra i due gruppi a confronto, quando tale differenza effettivamente esiste

Precisione e Potenza

- La precisione della stima dell'effetto e la potenza dello studio dipendono dall'ampiezza dell'**errore standard**:

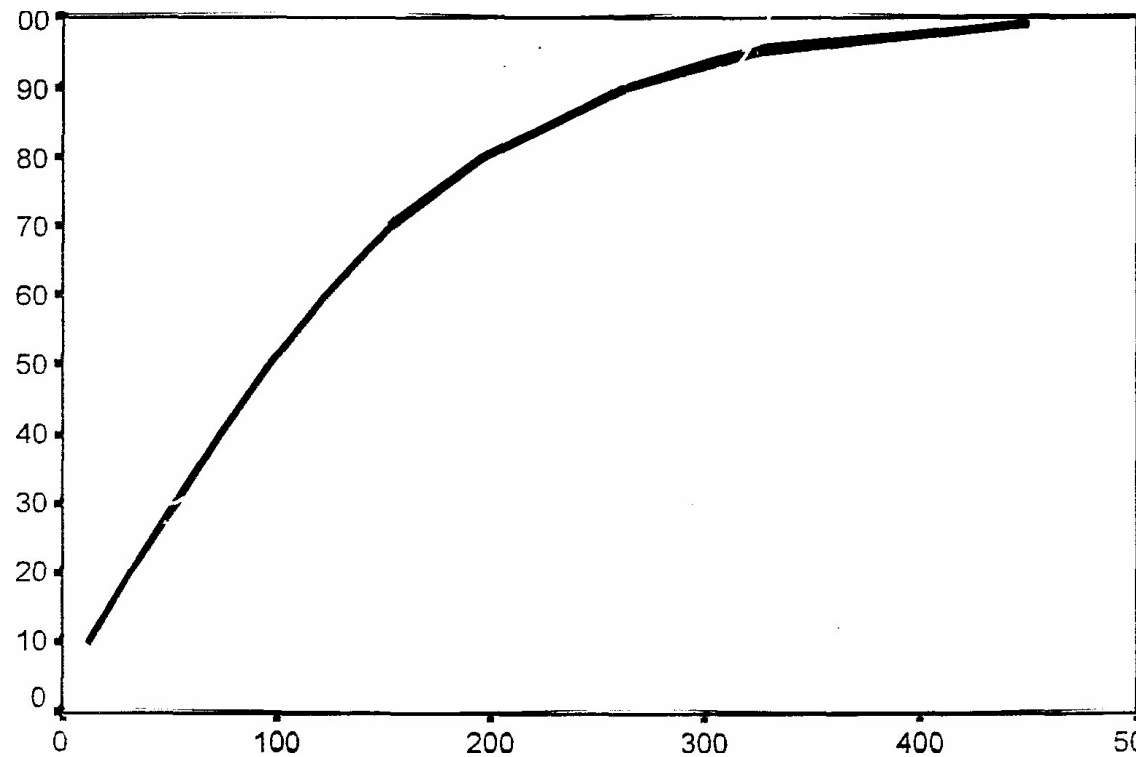
$$ES = ds \cdot \sqrt{\frac{2}{N}}$$

N = numero di unità per trattamento

La **precisione** aumenta con:

- ✓ l'aumento della numerosità
- ✓ la riduzione della deviazione standard
- ✓ l'ottimizzazione del disegno

Potenza in funzione della numerosità per il confronto tra due gruppi



Variabile di risposta: pressione in mmHg; minimo effetto biologico rilevante: 4 mmHg; Varianza: 100 mmHg; $\alpha = 0.05$

Potenza, significatività statistica e rilevanza della differenza

- In uno studio sull'otite media condotto su 40.000 bambini, **IMIPENEM** risultò significativamente superiore all'**AMOXICILLINA** (tasso di successo: 96.1% vs 95.2%; $p < 0.002$)

Statisticamente significativa e clinicamente irrilevante !!!

- In uno studio su 30 pazienti asmatici, **ATROVENT** risultò non essere significativamente differente dal **SALBUTAMOLO** (tasso di successo: 27% vs 47%; $p = 0.55$)

Statisticamente non significativa e clinicamente rilevante !!!

Misura standardizzata della Differenza

- effect-size -

- Cohen (1988) ha definito come misura standardizzata della differenza:

$$d = (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_0) / \sigma$$

Dove σ è stimata dalla deviazione standard pooled (o comune) dei gruppi a confronto.

D esprime la differenza tra le medie in termini di d.s. Se la variabile di risposta è gaussiana, d esprime la percentuale di sovrapposizione tra il gruppo sperimentale e il controllo. Es: d=0.8 significa che la media del gruppo sperimentale si colloca al 79 percentile dei valori del gruppo di controllo.

Orientativamente: 0.2== small; 0.5==moderate; 0.8=large

EX:

- In un RCTsu donne con ipertensione indotta da gravidanza, 230 ricevettero XXX e 240 Placebo. Dopo due settimane di trattamento la pressione diastolica del gruppo trattato con XXX era di 109 mmHg (d.s.=8 mm Hg) e nel gruppo di controllo era di 111 mmHg (d.s.=8 mm Hg)

$$\textit{stima . puntuale . dell' effetto} = \bar{X}_t - \bar{X}_p = 109 - 111 = 2\textit{mmHg}$$

$$\textit{e.s.}(\bar{X}_t - \bar{X}_p) = 8 * \sqrt{\frac{1}{230} + \frac{1}{240}} = 0.74$$

$$Z = 2 / 0.74 = 2.70 \rightarrow p < 0.05$$

$$95\%CI : -2\textit{mmhg} \pm 1.96 * 0.74 \rightarrow -3.45 : -0.54$$

$$d = 2 / 8 = 0.25$$

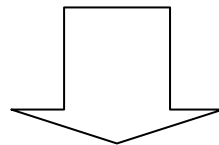
Precisione e Potenza

La precisione di uno studio può essere aumentata mediante opportuni disegni.

ad esempio - **disegno a blocchi**

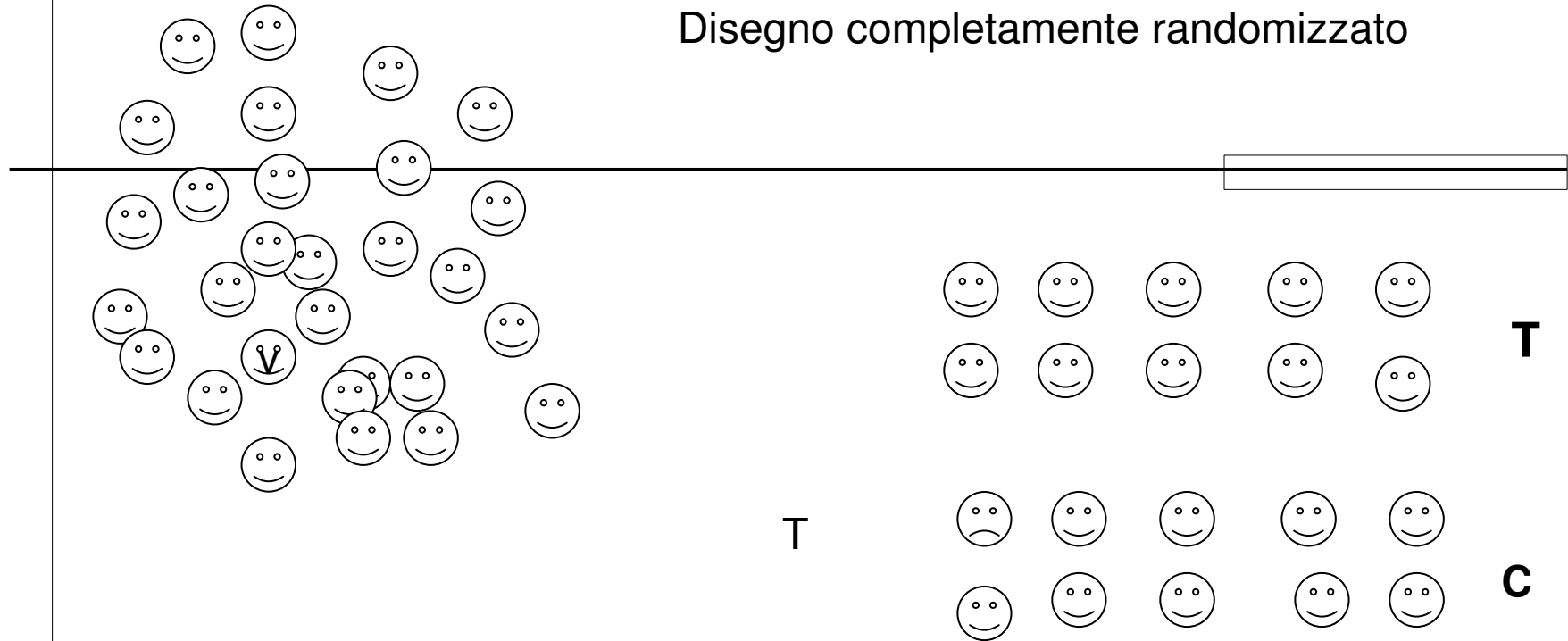
sulla base della conoscenza delle unità sperimentali si organizzano le stesse in gruppi omogenei (BLOCCHI) all'interno dei quali viene randomizzato il trattamento.

L'effetto del trattamento è valutato entro blocchi

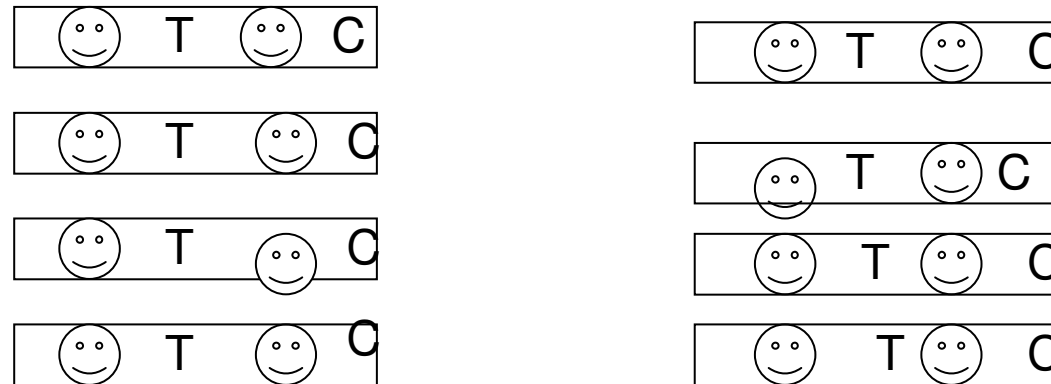


Riduzione della variabilità e dell'errore

Disegno completamente randomizzato



Disegno a blocchi randomizzati



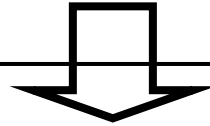
In una serie di esperimenti sul vaccino della pertosse sono stati testati due vaccini (A e B) per 10 giorni. La variabile di risposta è il log della dose (in milioni di organismi) richiesto per proteggere il 50% dei topi contro una seguente reinfezione

GIORNO	A	B	B-A
1	1,64	1,93	0,29
2	2,00	2,52	0,52
3	3,04	3,05	0,01
4	2,07	2,97	0,90
5	2,54	2,44	-0,10
6	2,76	3,18	0,42
7	2,03	2,30	0,27
8	2,20	2,56	0,36
9	2,38	2,99	0,61
10	3,42	4,20	0,78

esempio:

	disegno completamente randomizzato	disegno a blocchi randomizzati
stima dell'effetto	0.406	0.406
ds	0.583	0.314
ES	0.268	0.099
IC al 95%	-0.15; 0.97	0.19; 0.63
test	n.s.	p<0.001

**Confronto tra le medie di una variabile quantitativa
in 2 popolazioni - campioni dipendenti**



Test T di Student per dati appaiati

Esempio 2: *Punteggi di ansia rilevati in una sperimentazione clinica che ha coinvolto 10 pazienti nevrotici trattati per una settimana con un nuovo tranquillante e per una settimana con placebo, in ordine casuale di somministrazione (punteggio compreso tra 0 e 30, con valori elevati corrispondenti a stati d'ansia).*

[Armitage P & Berry G. Statistica Medica. McGraw-Hill, Milano, 1996: pp 109-10]

		PAZIENTE									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
punteggio	farmaco (y_{1i})	19	11	14	17	23	11	15	19	11	8
	placebo (y_{0i})	22	18	17	19	22	12	14	11	19	7

• si lavora con la variabile differenza: $D = Y_1 - Y_0 \rightarrow d_i = y_{1i} - y_{0i}$

$y_{01} \ y_{02} \ \dots \ y_{0n} \rightarrow n$ determinazioni indipendenti della v.c. $Y_0 \sim \text{Norm}(\mu_0, \sigma_0^2)$
 $y_{11} \ y_{12} \ \dots \ y_{1n} \rightarrow n$ determinazioni indipendenti della v.c. $Y_1 \sim \text{Norm}(\mu_1, \sigma_1^2)$
 $d_1 \ d_2 \ \dots \ d_n \rightarrow n$ determinazioni indipendenti della v.c. $D \sim \text{Norm}(\underbrace{\mu_1 - \mu_0}_{\mu_D}, \sigma_D^2)$

PAZIENTE

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
punteggio	farmaco (y_{1i})	19	11	14	17	23	11	15	19	11	8
	placebo (y_{0i})	22	18	17	19	22	12	14	11	19	7
	differenza (d_i)	-3	-7	-3	-2	1	-1	1	8	-8	1

I° STEP: definire il sistema di ipotesi da verificare

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0: \mu_D = 0 \quad (\Leftrightarrow \mu_1 = \mu_0) \\ H_1: \mu_D \neq 0 \quad (\Leftrightarrow \mu_1 \neq \mu_0) \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} H_0: \mu_D = 0 \\ H_1: \mu_D > 0 \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} H_0: \mu_D = 0 \\ H_1: \mu_D < 0 \end{array} \right.$$

II° STEP: definire la statistica test

III° STEP: calcolare il p-value

$$T = \frac{\bar{D}}{ES[D]} = \frac{\bar{D}}{S_D/\sqrt{n}} \underset{H_0}{\sim} \begin{cases} N(0,1) \\ t_{n-1} \end{cases}$$

se $n - 1 \geq 30$

se $n - 1 < 30$

$$\bar{d} = \Sigma d_i / n$$

$$s_D^2 = \Sigma (d_i - \bar{d})^2 / (n-1)$$

Approssimativamente valida per deviazioni dalla normalità della distribuzione di Y_1 e Y_0

Esempio 2 (continua):

		PAZIENTE									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
punteggio	farmaco (y_{1i})	19	11	14	17	23	11	15	19	11	8
	placebo (y_{0i})	22	18	17	19	22	12	14	11	19	7
differenza (d_i)		-3	-7	-3	-2	1	-1	1	8	-8	1

$$\bar{d} = \sum d_i / n = -1.30$$

$$s_D^2 = \sum (d_i - \bar{d})^2 / (n-1) = 20.68$$

$$\begin{cases} H_0: \mu_D = 0 \\ H_1: \mu_D \neq 0 \end{cases}$$

$$t = \frac{\bar{d}}{s_D/\sqrt{n}} = \frac{-1.30}{1.438} = -0.90 \text{ con 9 g.d.l.}$$

I° STEP

II° STEP

$$p\text{-value} = 2 \text{ prob} (T_9 \leq -0.90 \mid H_0 \text{ è vera}) = 0.39$$

III° STEP

p-value > 0.05 = livello $\alpha \Rightarrow$ risultato *'non significativo'* e non si rifiuta H_0

Stima puntuale ed intervallo di confidenza della media in 2 popolazioni - campioni dipendenti

$$CI(\mu_D) = \bar{d} \pm z_{\alpha/2} s_d \sqrt{1/n} \quad \text{se } n - 1 \geq 30$$

$\underbrace{\hspace{10em}}_{ES[\bar{D}]}$

STIMA PUNTUALE DELLA MEDIA

\uparrow

$t_{n-1, \alpha/2}$

\leftarrow

se $n - 1 < 30$

Esempio (continua):

$$95\%CI(\mu_D) = -1.30 \pm 2.262 * 1.438$$

$t_{9,0.025}$

media della differenza	- 1.30
[95%CI]	[- 4.55, 1.95]

95%CI contiene lo 0

⇒ non significatività dell'effetto (p=0.39)

Validità esterna

- le unità sperimentali sono rappresentative della popolazione su cui si vuole fare inferenza?
- le condizioni sperimentali sono state sufficientemente variate?
- l'effetto stimato ha un razionale biologico?
- il modello animale è estendibile all'uomo?

The diastolic blood pressures (DBP) of 8 patients were determined using two techniques: the standard method used by medical personnel and a method using an electronic device with a digital readout. The results were as follows:

Patient:	01	02	03	04	05	06	07	08
Standard:	72	80	88	85	78	74	97	60
Digital:	70	76	88	81	79	72	95	61

- Find a 95% confidence interval for the difference of the population mean DBPs between standard and digital methods.
- Using the confidence interval above, explain how you would answer the question: Do the data support the hypothesis that the DBP shows more significant mean difference between the standard method and the digital readout at 5% level of significance.

[$d=1.5$; $e.s(d)=0.70$]