



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Ing. Vojtěch Kamenský, Ph.D.

## Zadání laboratorního cvičení: Vyhodnocení klinické studie

### F7DIBST Biostatistika

V rámci 1. laboratorního cvičení z předmětu *F7DIBST Biostatistika* bude student zpracovávat data sesbíraná ve fiktivní klinické studii týkající se ischemické choroby končetin. Cílem cvičení je seznámit studenty s typickými praktickými postupy zpracování dat v rámci klinického výzkumu. Cvičení naopak není zaměřeno na plánování a praktickou realizaci klinických studií.

Laboratorní cvičení bude probíhat v laboratoři 433 Laboratoř klinického inženýrství a managementu zdravotnické techniky. Tato laboratoř byla pro potřeby nového akreditovaného programu involvována v projektu Modernizace laboratoří pro biomedicínské inženýrství (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_017/0002244) a předmět byl inovován v rámci projektu Biomedicínské inženýrství pro znalostní ekonomiku (CZ.02.2.69/0.0/0.0/16\_018/0002242). Práce bude zpracovávána pomocí softwaru Matlab.

Cvičení pokrývá bloky:

- Blok 1: Cvičení 1 + 2: Plánování pokusů s pohledu statistika, deskriptivní matematická statistika, náhodná veličina, rozdělení pravděpodobnosti. Výpočty a použití bodových a intervalových odhadů při hodnocení experimentů.
- Blok 2: Cvičení 3 + 4: Induktivní statistika, vyhodnocování experimentu z pohledu statistika, korelace, regrese, prezentace výsledků, hodnocení chyb, senzitivita, specifická při hodnocení experimentů.

#### Obsah

Ischemická choroba dolních končetin.....	3
Akutní tepenná ischemie končetiny .....	3
Chronická ischemická choroba končetin.....	3
Klasifikace chronické ischemické choroby končetin.....	4
Diagnostika ischemické choroby dolních končetin.....	4
Léčba ischemické choroby dolních končetin .....	5
Modelová klinická studie a popis dat.....	5
Úkoly statistického zpracování .....	7
Úkol 1: Popisná statistika datového souboru .....	7
Úkol 2: Prezentace výsledků studie .....	7
Úkol 3: Porovnání intervenčních skupin.....	8
Úkol 4: Závislost proměnných .....	8
Úkol 5: Analýza přežití .....	8
Seznam přístrojů softwaru.....	8
Pokyny k zpracování zadaných úkolů.....	8
Doporučený software: MATLAB® .....	9



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Poděkování.....	9
Zdroje a doporučená literatura .....	9



## Ischemická choroba dolních končetin

Ischemická choroba dolních končetin je způsobena zúžením nebo uzávěrem periferní tepny. To je způsobeno nejčastěji obliterující aterosklerózou, kdy dochází v tepenné stěně vede k postupnému nárůstu aterosklerotického plátu s možností kompletního uzávěru. Prevalence této choroby stoupá s věkem: ve věku nad 50 let je v rozmezí 3–10 % s nárůstem k 15–20 % v populaci starší 70 let [1].

Mezi nejvýznamnější rizikové faktory patří:

- kouření
- diabetes mellitus
- arteriální hypertenze
- pohlaví (mužské pohlaví)
- věk (viz výše)
- dyslipidemie (zvýšená hladina cholesterolu v krvi)

Můžeme rozlišovat několik forem onemocnění:

- akutní tepenná ischemie končetiny,
- chronické formy ischemické choroby končetin,
  - asymptomatické,
  - symptomatické,
  - kritická končetinová ischémie.

### Akutní tepenná ischemie končetiny

Je způsobena náhlou obstrukcí tepny embolem, trombem nebo akutním traumatem. Tíže ischemie končetiny je závislá na rozsahu obstrukce, jejím anatomickém uložení (výši uzávěru) a kapacitě kolaterálního řečiště. U akutní tepenné ischémie končetiny je nutné pacienta co nejrychleji transportovat na specializované oddělení a zahájení katetrizační nebo chirurgické léčby.

Pozn.: V naší fiktivní studii nebudeme pro zjednodušení akutní tepennou ischemii končetiny uvažovat.

### Chronická ischemická choroba končetin

Velká část pacientů je asymptomatických, tito pacienti jsou většinou zachyceni náhodně nebo v rámci cíleného vyšetření nemocného u kterého je přítomno více rizikových faktorů. Avšak i tito pacienti jsou ohroženi zhoršenou prognózou (zvýšené riziko kardiovaskulární morbidity a mortality).

U symptomatických forem je nejběžnějším příznakem intermitentní klaudikace (kulhání), která je způsobena ischémii svalu při zátěži. Projevem je trvalá, svíravá nebo křečovitá bolest v určité svalové skupině vznikající při zátěži, která se s pokračující námahou neúnosně zvětšuje a donutí k zastavení, a poté do několika minut mizí.

Doporučené postupy uvádějí, že: „Cca čtvrtina nemocných s klaudikacemi se v průběhu sledování zásadně zhoršuje. Pouze u 1–5% nemocných s klaudikacemi dojdou nutnosti větší amputace (v pětiletém horizontu), pouze u diabetiků je prognóza končetiny horší [2].“

Při kritické končetinové ischémii dochází ke klidové bolesti v akrálních partiích nohy. Obtíže se většinou rozvíjejí postupně, takže nemocný přichází až po několika dnech od začátku. Pacient s kritickou



končetinovou ischemií by měl být vždy neodkladně hospitalizován k posouzení možnosti revaskularizace.

### **Klasifikace chronické ischemické choroby končetin**

Pro hodnocení stupně závažnosti se používá několik možných klasifikací (Fontainova, Ruthefordova a další). Fontainova klasifikace rozděluje ischemickou chorobu dolních končetin na stádia I–IV uvedená v Tabulce 1:

**Tabulka 1: Klasifikace dle Fontaina [2]**

Stádium	Klinický projev
I	klinicky latentní stadium (asymptomatické)
IIa	klaudikace > 200 m
IIb	klaudikace < 200 m
IIc	klaudikace < 50 m
III <sup>1</sup>	Ischemická klidová bolest
IV <sup>1</sup>	Ulcerace nebo gangrény

### **Diagnostika ischemické choroby dolních končetin**

- **Anamnéza:** měla by zahrnovat kardiovaskulární rizikové faktory a přidružená onemocnění; symptomy vztahující se k poškození cévního řečiště; životosprávu, dietní zvyklosti, výkonnost při chůzi, fyzické aktivity pacienta.
- **Laboratorní testy:** glykémie, lipidogram, krevní obraz, chemické vyšetření moči a další.
- **Zobrazovací metody:** Duplexní ultrasonografie; Digitální subtrakční angiografie; CT angiografie; MR angiografie.
- **Instrumentální vyšetření ABI:** Zjišťuje se tzv. *Ankle Brachial Index* (Index kotníkových tlaků), což je poměr systolického tlaku v oblasti kotníku a systolického tlaku na paži. Jedná se o metodu s vysokou senzitivitou a specificitou, která diagnostikuje ischemickou chorobu dolních končetin a posoudí rozsah nemoci. Interpretaci možných výsledků měření shrnuje Tabulka 2.

**Tabulka 2: Interpretace výsledků měření ABI**

ABI	Interpretace
> 1,3	nekompresibilní tepna – patologický nález
1,00 – 1,29	normální nález
0,91 – 0,99	hraniční nález
0,41 – 0,90	středně významná ischemie
0,00 – 0,40	těžká ischemie

- **Treadmill test:** stanovení klaudikační vzdálenosti testem na běhátku. Můžeme pomocí testu na pásu s rychlostí 3,2 km/hod s náklonem 12°, objektivizovat délku bezbolestné nebo maximální klaudikační vzdálenosti. Díky těmto údajům tak můžeme vyhodnotit přínos léčby a porovnat vývoj výsledků v čase.

<sup>1</sup> Tato stádia se běžně ještě dělí na IIIa, IIIb, IVa a IVb, v rámci zjednodušení v hypotetické studii toto rozdělení nepoužíváme.



### Léčba ischemické choroby dolních končetin

- **Léčebná intervence rizikových faktorů:** např. kouření, diabetu, dyslipoproteinémie, antihypertenzní léčba.
- **Farmakoterapie:** např. protidestičková medikace ke snížení trombotických komplikací; vazodilatorní léky pro prodloužení klaudikační vzdálenosti.
- **Rehabilitační léčba:** symptomatická léčba, svalový trénink léčby klaudikací. Primární léčebný přístup u všech nemocných s klaudikacemi.
- **Revaskularizační léčba:** indikací jsou gangrény nohy, nehojící se kožní defekty tepenné etiologie, klidová ischemická bolest a limitující klaudikace. Endovaskulární léčba: perkutánní transluminální angioplastika (PTA) eventuálně s primární implantací stentu (PTA/S)<sup>2</sup>. Chirurgická léčba – bypass.

### Modelová klinická studie a popis dat

Pro potřeby laboratorního cvičení využijte soubor Data\_ICHDK.xlsx, který můžete nalézt na stránkách předmětu v sekci Materiály ke stažení. Soubor byl vytvořen v programu Microsoft Excel.

V rámci výzkumu ischemické choroby dolních končetin jsme provedli randomizovanou kontrolovanou studii na 500 pacientech, zaměřenou na porovnání účinnosti endovaskulární terapie pomocí metod PTA a PTA s následnou implantací stentu (PTA/S). Do klinické studie jsme zařadili pouze symptomatické pacienty s klaudikačními bolestmi s diagnostikovanou chronickou ischemickou chorobou povrchní stehenní tepny a s naplánovanou endovaskulární léčbou. Žádný z pacientů neměl na začátku studie klidovou bolest, a tudíž nebyl diagnostikován s kritickou končetinovou ischémií, avšak uvažujeme, že ta mohla nastat v průběhu studie.

Základní charakteristiky, které jsme u patientského souboru zaznamenávali na začátku studie jsou uvedeny v Tabulka 3: Patientské charakteristiky při zahájení studie. V plánu studie bylo sledovat pacienty 5 let po provedené intervenci. V rámci sledovaného období byly pro pacienty naplánovány kontrolní vyšetření ve 3, 12 (1 rok), 36 (3 roky) a 70 měsících (5 let). Údaje, které jsme v průběhu studie zaznamenávali jsou uvedeny v Tabulce 4. Pro každou zaznamenanou proměnnou je v tabulkách uvedený název proměnné v datovém souboru a popis proměnné s uvedením jednotek nebo možností realizace proměnné.

*Pozn.: Nejedná se o reálná data, datový soubor byl uměle vytvořen pro potřeby laboratorních cvičení. Data byla nicméně tvořena tak, aby věrně odpovídala reálné situaci a umožnila studentovi seznámit se s postupy používanými při zpracování dat v rámci klinického výzkumu.*

**Tabulka 3: Patientské charakteristiky při zahájení studie**

Proměnná	Název v datovém souboru	Popis
Věk	<i>age</i>	Věk pacientů v rocích
Hmotnost	<i>weight</i>	Hmotnost pacientů v kg
Výška	<i>height</i>	Výška pacientů v cm
Pohlaví	<i>sex</i>	Pohlaví pacientů: <ul style="list-style-type: none"><li>• 0 – žena</li><li>• 1 - muž</li></ul>
Kouření	<i>smoking</i>	Status kouření: <ul style="list-style-type: none"><li>• nekuřák – non_smoker</li></ul>

<sup>2</sup> Existují i další speciální intervenční postupy.



		<ul style="list-style-type: none"><li>• bývalý kuřák – <i>ex-smoker</i></li><li>• kuřák – <i>smoker</i></li></ul>
Diabetes mellitus	<i>diabetes</i>	Diabetes mellitus <ul style="list-style-type: none"><li>• 0 – pacient bez DM</li><li>• 1 – pacient s DM</li></ul>
Klaudikační vzdálenost	<i>distance_1</i>	Ušlá vzdálenost pacienta v m bez klaudikačních bolestí
ABI	<i>abi_1</i>	Index kotníkových tlaků (poměr systolického tlaku na kotníku a na paži)
Kardiovaskulární komorbidity <sup>3</sup>	<i>comorbidity</i>	Možné komorbidity: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Arytmie – arrhythmia</i></li><li>• <i>Hypertenze – hypertension</i></li><li>• <i>Cerebrovaskulární onemocnění – cerebrovascular</i></li></ul>
Celkový cholesterol	<i>total_chol</i>	Hodnota celkového cholesterolu v mmol/l
LDL cholesterol	<i>LDL_chol</i>	Hodnota LDL cholesterolu v mmol/l
Intervence	<i>intervention</i>	Léčebná terapie <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>PTA</i></li><li>• <i>PTA_S</i></li></ul>

Tabulka 4: Parametry měřené během studie

Proměnná	Název v datovém souboru	Popis
Úmrtí	<i>death</i>	Pacient umřel: <ul style="list-style-type: none"><li>• 0 – ne</li><li>• 1 – ano</li></ul>
Čas úmrtí	<i>time_death</i>	Informace kdy pacient umřel v měsících po začátku studie (pokud pacient neumřel tak je hodnota NA)
Příčina úmrtí	<i>cause_death</i>	Z jakých příčin pacient zemřel: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Z vaskulárních – vascular</i></li><li>• <i>Z jiných příčin – nonvascular</i></li></ul>
Ztráta sledování pacienta	<i>time_fu</i>	Informace v měsících, pokud byl pacient ztracen ve sledování. Možné hodnoty: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Bez ztráty sledování – NA</i></li><li>• <i>3 měsíce – 3</i></li><li>• <i>1 rok – 12</i></li><li>• <i>3 roky – 36</i></li><li>• <i>5 let – 70</i></li></ul>
Amputace	<i>amputation</i>	Zda byla provedena amputace a kde byla provedena: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Bez amputace – non_amputation</i></li><li>• <i>Nad kolenem – above_knee</i></li><li>• <i>Pod kolenem – below_knee</i></li><li>• <i>Na noze – foot</i></li><li>• <i>Prst – toe</i></li></ul>
Čas amputace	<i>time_amputation</i>	Kdy byla provedena amputace v měsících (pokud pacient je bez amputace hodnota je NA)

<sup>3</sup> Pro zjednodušení uvažujeme, že pacient má pouze jednu kardiovaskulární komorbidity.



Reoperace	<i>reoperation</i>	Informace, zda byla ve sledovaném období provedena reoperace <sup>4</sup> a jaká reoperace byla provedena: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Bez reoperace – 0</i></li><li>• <i>PTA – PTA</i></li><li>• <i>PTA/S – PTA_S</i></li><li>• <i>Bypass – bypass</i></li></ul>
Čas reoperace	<i>time_reoperation</i>	Čas, kdy byla provedena reoperace v měsících (pokud nebyla provedena reoperace tak je hodnota NA)
Kritická končetinová ischemie	<i>cli</i>	Informace, zda se v průběhu sledování vyskytla kritická končetinová ischemie: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>0 – ne</i></li><li>• <i>1 – ano</i></li></ul>
Čas kritické končetinové ischemie	<i>time_cli</i>	Čas kdy se objevila kritická končetinová ischemie v měsících (pokud nebyla provedena reoperace tak je hodnota NA)
Náklady	<i>cost</i>	Náklady vynaložené na léčbu pacienta v Kč.
Doba hospitalizace	<i>time_hospitalization</i>	Délka hospitalizace pacienta ve sledovaném období ve dnech. <sup>5</sup>
ABI	<i>abi_3</i> <i>abi_12</i> <i>abi_36</i> <i>abi_70</i>	Index kotníkových tlaků (poměr systolického tlaku na kotníku a na paži) v jednotlivých sledovaných obdobích.
Klaudikační vzdálenost	<i>distance_3</i> <i>distance_12</i> <i>distance_36</i> <i>distance_70</i>	Ušlá vzdálenost pacienta v <i>m</i> bez klaudikačních bolestí v jednotlivých sledovaných obdobích.
Klidová bolest	<i>rest_pain_3</i> <i>rest_pain_12</i> <i>rest_pain_36</i> <i>rest_pain_70</i>	Klidová bolest bolestí v jednotlivých sledovaných obdobích: <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>0 – pacient bez klidových bolestí</i></li><li>• <i>1 – pacient s klidovými bolestmi</i></li></ul>

## Úkoly statistického zpracování

Statisticky zpracujte data z klinické studie jako přípravu pro publikování výsledků studie v odborném článku.

### Úkol 1: Popisná statistika datového souboru

V rámci prezentace výsledků klinické studie v odborném periodiku chcete prokázat, že jsou skupiny pacientů v rámci Vaší studie srovnatelné z hlediska základních charakteristik souboru. Jakým způsobem můžete tuto skutečnost prokázat na základě dat ve vašem datovém souboru?

### Úkol 2: Prezentace výsledků studie

Jakým způsobem můžete graficky prezentovat výsledky zlepšení v proměnné klaudikační vzdálenost tak, aby byly z grafu patrné hodnoty mediánu, minimální a maximální hodnoty a mezikvartilové rozpětí?

<sup>4</sup> Pro zjednodušení uvažujeme, že je možná jen jedna reoperace ve sledovaném období.

<sup>5</sup> Pokud byl pacient znovu hospitalizován, jedná se o součet obou hospitalizací dohromady.



### Úkol 3: Porovnání intervenčních skupin

Jak můžete porovnat skupiny pacientů léčených jednotlivými intervencemi z hlediska:

1. úmrtí pacientů,
2. náklady na léčbu pacientů,
3. ABI pro jednotlivá sledovaná období,
4. v rozložení typu amputací?

### Úkol 4: Závislost proměnných

Jsou proměnné kouření a amputace závislé? Jakým způsobem můžeme určit a kvantifikovat vztah mezi expozicí rizikovému faktoru a zdravotním následkem? Ukazatele spočítejte spolu s jejich intervaly spolehlivosti. Porovnejte výsledné spočítané ukazatele mezi jednotlivými hodnocenými intervencemi.

### Úkol 5: Analýza přežití

Pro porovnání přežití porovnání pouze četností úmrtí/přežití není vždy vhodné. Pro obě skupiny spočítejte analýzu přežití. Dále vytvořte křivku přežití bez amputace, pro tuto analýzu vytvořte pro obě intervence zvlášť analýzu pro pacienty s diabetem mellitus a bez něj. Pro tvorbu analýzy přežití využijte neparametrickou Kaplan-Meierovu metodu.

### Seznam přístrojů, softwaru

Povinné:

- 1.1.2.3.1.2 HW LabKIMZ: PC stanice+monitory
- 1.1.1.6.6 SW LabKIMZ: statistika a modelování Software na statistické zpracování dat - MATLAB

### Pokyny k zpracování zadaných úkolů

Pro zpracování dat v rámci laboratorního cvičení je primárně uvažován program MATLAB® (MathWorks, USA), avšak datový soubor je vytvořen ve formátu xlsx a tak je možno zadané úkoly vypracovat i v jiných programech a prostředích, jako je například R Studio, Stata, SPSS a další.

V rámci zpracování zadaných úkolů lze využít několik možných postupů nebo funkcí, které softwarový nástroj MATLAB® poskytuje. U zadaných úkolů je vždy jen uvedeno doporučení, jaké funkce nebo postupy zpracování je možné využít při řešení. Student se však při zpracování dat nemusí řídit navrhnutou nápovědou.

**Řešení zadaných úkolů odevzdejte v podobě závěrečné zprávy (protokolu), zpracované podle přiložené šablony. Tento návod bude přílohou zprávy, stejně jako skripty s Vaším řešením.**

Další pokyny:

- Pokud není řečeno jinak všechny statistické testy provádějte na hladině významnosti 5 %.
- Pokud je to pro řešení zadané úlohy vhodné stanovit hypotézy, tak je stanovte i bez explicitního požadavku v zadání úkolu.
- U testování hypotéz uveďte na základě, čeho jste rozhodli o hypotézách.
- Pro použité testy uveďte, jaké jsou jejich předpoklady a zda byly splněny.





## Doporučený software: MATLAB®

Jedná se o inženýrský nástroj a interaktivní programové prostředí pro vědecké a technické výpočty, analýzu dat, vizualizaci a vývoj algoritmů, využívaný miliony inženýrů a vědců po celém světě. Poskytuje řešení v oblastech, jako je aplikovaná matematika, statistika, strojové učení, zpracování signálu a komunikace, zpracování obrazu a počítačové vidění, finanční analýza a modelování, návrh řídicích systémů, robotika a mnoha dalších.

Pro oblast statistiky je poskytuje základní sadu nástrojů *Statistics and Machine Learning Toolbox* (<https://www.mathworks.com/products/statistics.html>). Tato sada nástrojů poskytuje funkce a aplikace pro popis, analýzu a modelování dat. Umožňuje tak například:

- výpočty popisné statistiky, tvorbu grafů,
- analyzovat rozdělení pravděpodobností dat,
- provádět testování statistických hypotéz,
- využití regresních a klasifikačních algoritmů,
- generovat náhodná čísla pro Monte Carlo simulaci,
- tvorbu prediktivních modelů,
- vícerozměrnou analýzu dat.

Další vhodné nástroje, které můžeme využít při zpracování dat v biomedicínském výzkumu jsou v sadách nástrojů *Industrial Statistics* nebo *Analysis of Lifetime Data*. Zde můžeme využít nástroje pro tzv. time-to-event<sup>6</sup> analýzy (v medicíně nazývané analýza přežití), software MATLAB® umožňuje využívat jak neparametrické tak parametrické metody pro analýzu dat přežití.

Dokumentace pro *Statistics and Machine Learning Toolbox* včetně tutoriálů je k dispozici na adrese <https://www.mathworks.com/help/stats/>.

## Poděkování

Laboratorní cvičení bylo vytvořeno v rámci projektu Biomedicínské inženýrství pro znalostní ekonomiku (CZ.02.2.69/0.0/0.0/16\_018/0002242). a bude probíhat v laboratoři 433 Laboratoř klinického inženýrství a managementu zdravotnické techniky, která byla inovována v rámci projektu Modernizace laboratoří pro biomedicínské inženýrství (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_017/0002244).

## Zdroje a doporučená literatura

- [1] M. H. Criqui and V. Aboyans, “Epidemiology of Peripheral Artery Disease,” *Circ. Res.*, vol. 116, no. 9, pp. 1509–1526, Apr. 2015.
- [2] D. Karetová, K. Roztočil, and O. Herber, *ISCHEMICKÁ CHOROBA DOLNÍCH KONČETIN, Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře 2011*. Praha, 2011.

---

<sup>6</sup> Funkce pro time-to-event analýzu najdeme i v sadě Statistics and Machine Learning Toolbox.