

Univerza v Ljubljani

Interdisciplinarni študijski program Uporabna statistika

Sonja Bernard

**Retrospektivna kohortna študija  
in študija s kontrolno skupino na  
primeru klopnega  
meningoencefalitisa**

Magistrsko delo

Mentor:izr. prof. dr. Lara Lusa

Ljubljana, 2019



## Izjava o avtorstvu, istovetnosti elektronske in tiskane verzije ter avtorskih pravicah

Izjavljam:

- da sem magistrsko delo z naslovom Retrospektivna kohortna študija in študija s kontrolno skupino na primeru klopnega meningoencefalitisa izdelala samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Lare Lusa,
- da je elektronska oblika dela identična s tiskano obliko in
- da Fakulteti za elektrotehniko Univerze v Ljubljani dovoljujem objavo elektronske oblike svojega dela na spletnih straneh Repozitorija Univerze v Ljubljani.

Ljubljana, 05. 09. 2019

Podpis:



## Zahvala

Posebna zahvala gre mentorici, izr. prof. dr. Lari Lusa, za predlagano temo in za strokovno vodenje ter nasvete ob nastajanju magistrskega dela.

Na tem mestu se lahko zahvalim še veliko osebam, ki so na različne načine pripomogle k nastanku tega dela. Najprej bi rada rekla hvala vsem, ki so me spodbujali, ko mi je zmanjkovalo energije. Prav tako bi se rada zahvalila tistim, ki so pomagali z razlago določenih strokovnih pojmov ter z vsebinskimi in oblikovnimi predlogi. Na koncu bi se zahvalila še Andreji, ki je bila pripravljena pregledati nalogo in poloviti morebitne slovnične napake.



# Vsebina

<b>1</b>	<b>Uvod</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Metode za analizo dejanskih podatkov</b>	<b>7</b>
2.1	Vrste študij v medicini . . . . .	7
2.1.1	Presečna študija . . . . .	9
2.1.2	Kohortna študija . . . . .	11
2.1.2.1	Prospektivna kohortna študija . . . . .	13
2.1.2.2	Retrospektivna kohortna študija . . . . .	14
2.1.3	Študija s kontrolno skupino . . . . .	15
2.2	Moteča spremenljivka . . . . .	17
2.3	Mere povezanosti med izidom in dejavnikom tveganja . . . . .	21
2.3.1	Relativno tveganje . . . . .	21
2.3.2	Razmerje obetov . . . . .	22
2.4	Statistične metode za analizo podatkov pri opazovalnih študijah z dihotomnimi izidi . . . . .	23
2.4.1	Logistična regresija . . . . .	24
2.4.2	Interval zaupanja . . . . .	26
2.4.3	Statistični test . . . . .	27

---

2.4.4	Statistična moč in velikost testa . . . . .	28
2.5	Podatki o klopnem meningoencefalitisu . . . . .	29
2.5.1	Izid raziskave . . . . .	30
2.5.2	Pojasnjevalne spremenljivke . . . . .	30
2.5.3	Retrospektivna kohortna študija . . . . .	33
2.5.4	Študija s kontrolno skupino . . . . .	35
<b>3</b>	<b>Rezultati analize podatkov o klopnem meningoencefalitisu</b>	<b>37</b>
3.1	Izid raziskave . . . . .	38
3.2	Pojasnjevalne spremenljivke . . . . .	39
3.3	Univariatna logistična regresija . . . . .	45
3.3.1	Razmerje obetov . . . . .	45
3.3.2	Natančnost ocene . . . . .	49
3.3.3	Post-hoc statistična moč . . . . .	50
3.4	Multipla logistična regresija . . . . .	50
<b>4</b>	<b>Simulacije</b>	<b>53</b>
4.1	Metode . . . . .	53
4.2	Rezultati . . . . .	55
<b>5</b>	<b>Razprava</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>Zaključek</b>	<b>67</b>
<b>A</b>	<b>Multipla logistična regresija</b>	<b>75</b>
<b>B</b>	<b>Slovarček uporabljene terminologije</b>	<b>79</b>



## Seznam slik

2.1	Časovni prikaz opazovalnih študij (povzeto po viru [1]). . . . .	9
2.2	Shema presečne študije. . . . .	10
2.3	Shema kohortne študije (povzeto po viru [2]). . . . .	12
2.4	Shema prospektivne kohortne študije (povzeto po viru [2]). . . . .	13
2.5	Shema retrospektivne kohortne študije (povzeto po viru [2]). . . . .	15
2.6	Shema študije s kontrolno skupino (povzeto po viru [2]). . . . .	16
2.7	Moteča spremenljivka (povzeto po viru [3]). . . . .	18
3.1	Grafikon kvartilov: Starost. . . . .	40
3.2	Strukturni stolpci: Spremljajoče bolezni. . . . .	41
3.3	Strukturni stolpci: Dvofazni potek bolezni. . . . .	41
3.4	Grafikon kvartilov: Število levkocitov v likvorju. . . . .	42
3.5	Grafikon kvartilov: Koncentracija proteinov v likvorju. . . . .	43
3.6	Grafikon kvartilov: Količnik albuminov. . . . .	44
3.7	Grafikon kvartilov: Količnik IgG. . . . .	45
3.8	Grafikon kvartilov: Spremljajoče bolezni in starost. . . . .	48



## Seznam tabel

1	Notacija in oznake. . . . .	xiv
2.1	Kontingenčna tabela. . . . .	21
2.2	Kontingenčna tabela s podatki o kajenju in pljučnem raku. . . . .	21
3.1	Opis pojasnjevalnih spremenljivk, retrospektivna kohortna študija. . . . .	37
3.2	Opis pojasnjevalnih spremenljivk, študija s kontrolno skupino. . . . .	38
3.3	Kriteriji za usklajevanje. Število parov, kjer nismo dobili popolnega ujemanja. (+): število parov, kjer so bile kontrole starejše od primerov, (-): število parov, kjer so bile kontrole mlajše od primerov. . . . .	39
3.4	Razmerje obetov. Rezultati univariatne logistične regresije in retrospektivne kohortne študije s popravkom za moteči spremenljivki. . . . .	46
3.5	Statistična moč (post-hoc). . . . .	47
3.6	Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, retrospektivna kohortna študija. Model z imputacijo povprečnih vrednosti pri spremenljivkah <i>količnik albuminov</i> in <i>količnik IgG</i> . . . . .	51
3.7	Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, študija s kontrolno skupino. Model z imputacijo povprečnih vrednosti pri spremenljivkah <i>količnik albuminov</i> in <i>količnik IgG</i> . . . . .	52

4.1	Simulacije, velikost kohorte $n = 300$ . Rezultati za pristranskost regresijskega koeficienta $\beta_x$ , variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta $\hat{\beta}_x$ in odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja $\alpha = 0,05$ . . . . .	57
4.2	Simulacije, velikost kohorte $n = 400$ . Rezultati za pristranskost regresijskega koeficienta $\beta_x$ , variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta $\hat{\beta}_x$ in odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja $\alpha = 0,05$ . . . . .	58
4.3	Simulacije, velikost kohorte $n = 500$ . Rezultati za pristranskost regresijskega koeficienta $\beta_x$ , variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta $\hat{\beta}_x$ in odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja $\alpha = 0,05$ . . . . .	59
A.1	Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, retrospektivna kohortna študija. . . . .	75
A.2	Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, retrospektivna kohortna študija. Model brez spremenljivk <i>količnik albuminov</i> in <i>količnik IgG</i> . . . . .	76
A.3	Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, študija s kontrolno skupino. . . . .	77
A.4	Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, študija s kontrolno skupino. Model brez spremenljivk <i>količnik albuminov</i> in <i>količnik IgG</i> . . . . .	78

## Notacija in oznake

V pričujočem magistrskem delu so uporabljene notacija in oznake, podane v tabeli 1.

Notacija	
$a$	število izpostavljenih primerov
$c$	število neizpostavljenih primerov
$b$	število izpostavljenih kontrol
$d$	število neizpostavljenih kontrol
$R$	tveganje
$RR$	relativno tveganje
$O$	obeta
$OR$	razmerje obetov
$Y$	status udeleženca
$X$	pojasnjevalna spremenljivka
$\beta$	ocenjevani parameter
$P$	verjetnost dogodka
$L_{nep}$	nepogojno največje verjetje
$L_{pog}$	pogojno največje verjetje
$n$	skupno število udeležencev
$n_1$	število primerov
$l$	število možnih kombinacij izbora $n_1$ števil
$k$	število stratumov
$n_{1i}$	število primerov v $i$ -tem stratumu

---

$n_{0i}$	število kontrol v $i$ -tem stratumu
$l_i$	število možnih kombinacij izbora $n_{1i}$ števil
$IZ$	interval zaupanja
$\beta_H$	ničelna vrednost
$\alpha$	stopnja tveganja
$SE$	standardna napaka
$H_0$	ničelna hipoteza
$KME$	klopni meningoencefalitis
$M$	meningitis
$ME$	meningoencefalitis
$MEM$	meningoencefalomielitis
$IgG$	imunoglobulin G
$Q_{Alb}$	količnik albuminov
$Q_{IgG}$	količnik IgG
$IQR$	interkvartilni razpon
$NA$	število manjkajočih podatkov
$SD$	standardni odklon
$y$	izid
$x$	pojasnjevalna spremenljivka
$z$	moteča spremenljivka
$\rho_{xz}$	korelacija med $x$ in $z$
$\beta_0$	regresijska konstanta
$\beta_x$	regresijski koeficient pojasnjevalne spremenljivke $x$
$\beta_z$	regresijski koeficient moteče spremenljivke $z$

---

Tabela 1: Notacija in oznake.

Natančnejši pomen oznak je pojasnjen v spremljajočem besedilu, kjer je oznaka uporabljena.

## Povzetek

Pri retrospektivni analizi redkih bolezni se pogosto uporablja študija s kontrolno skupino, obstaja pa tudi možnost uporabe retrospektivne kohortne študije. V nalogi smo primerjali rezultate obeh omenjenih študij, z namenom ugotoviti, v kolikšni meri so njuni rezultati primerljivi oziroma z namenom raziskati katera študija je bolj priporočljiva v določeni situaciji.

V nalogi so bili analizirani dejanski podatki o klopnem meningoencefalitisu, pri čemer smo uporabili univariatno in multiplo logistično regresijo. Primerjavo rezultatov študij smo podkrepili s simulacijami, kjer smo si pogledali razlike v pristranskosti regresijskega koeficienta, variabilnosti regresijskega koeficienta in deležu statistično značilnih rezultatov.

V teoretičnem delu naloge smo na kratko opisali kohortno študijo in študijo s kontrolno skupino, njune glavne značilnosti in najpogosteje uporabljene mere povezanosti (relativno tveganje ter razmerje obolevnosti). Med drugim smo izpostavili problem vpliva moteče spremenljivke in opisali metode, s katerimi lahko vpliv omejimo. Predstavili smo tudi statistične modele, ki so bili v nadaljevanju uporabljeni za analizo podatkov: logistična regresija, interval zaupanja, Waldov statistični test, statistična moč in velikost testa. Teoretični del smo zaključili s predstavitvijo dejanskih podatkov, kratkim opisom spremenljivk in metod uporabljenih pri analizi dejanskih podatkov.

Značilnosti uporabljenih spremenljivk smo raziskali z uporabo opisnih statistik (frekvenca in odstotek za opisne spremenljivke, mediana in interkvartilni razpon za številske spremenljivke, število manjkajočih vrednosti). Opazili smo,

da imata dve spremenljivki visok delež manjkajočih podatkov. Pri univariatni logistični regresiji (retrospektivna kohortna študija) so bile vse številske spremenljivke statistično značilno povezane z izidom, z izjemo starosti. Nepogojna in pogojna logistična regresija pri študiji s kontrolno skupino sta dali podobne rezultate - nepogojna je imela nekoliko večjo statistično moč. Multipla logistična regresija ni vrnila statistično značilnih rezultatov, smo pa ponovno dobili primerljive rezultate pogojne in nepogojne logistične regresije.

Pri simulacijah smo generirali kohorto podobne velikosti kot pri dejanskih podatkih in s podobnim deležem dogodkov. Najmanjšo pristranskost regresijskega koeficienta pojasnjevalne spremenljivke smo dobili v primeru retrospektivne kohortne študije s popravkom za motečo spremenljivko. Omenjena študija je imela tudi največjo statistično moč, kar je bilo pričakovano, saj smo imeli pri kohortni študiji večji vzorec kot pri študiji s kontrolno skupino. Pri tem je potrebno povedati, da je študija s kontrolno skupino vračala podobne rezultate kot kohortna študija oziroma so se jim rezultati študije s kontrolno skupino, z večanjem števila kontrol, približevali. Odsvetujemo uporabo študije s kontrolno skupino, ko sta pojasnjevalna in moteča spremenljivka močno povezani, saj zaradi prekomernega usklajevanja dobimo podcenjene vrednosti regresijskih koeficientov in izredno nizko statistično moč. Rezultati simulacij so potrdili tudi domnevo, da so rezultati nepogojne in pogojne logistične regresije pri študiji s kontrolno skupino skoraj identični. Manjša razlika je bila le v statistični moči, kjer je imela nepogojna logistična regresija nekoliko boljši rezultat.

**Ključne besede:** retrospektivna kohortna študija, študija s kontrolno skupino, klopni meningoencefalitis, razmerje obolevnosti



## Abstract

Retrospective analysis of rare diseases frequently employs case-control studies, but retrospective cohort studies can be used, as well. In the thesis, we compare results of both studies to assess to what extent their results are comparable and to evaluate which study is better in a specific situation.

In the thesis we re-analyzed a dataset of real data on tick-borne meningo-encephalitis using univariate and multiple logistic regression for data analysis. Real data results were supplemented with simulations, where we compared bias of regression coefficient, variability of regression coefficient and percentage of statistically significant results.

In the theoretical part of the thesis we briefly described the cohort study and the case-control study, their main characteristics, and measures of association (relative risk and odds ratio). Among other things, we focused on confounding variable problem and described methods that can be used to control confounding. Statistical models that were used for data analysis were presented as well: logistic regression, confidence interval, Wald's statistical test, statistical power and type I error. We concluded the theoretical part with real data description, brief variable description and methods used to analyze real data.

Real data characteristics were explored using descriptive statistics (frequency and percentage in case of descriptive variables, median value and interquartile range in case of numerical variables, number of missing values). We noticed that two variables had a high percentage of missing data. With univariate logistic regression's analysis (retrospective cohort study) all numerical variables were

statistically significantly associated to the outcome, except for age. Results of unconditional and conditional logistic regression were almost identical – statistical power of unconditional regression was slightly higher. With multiple logistic regression none of the variables achieved statistical significance, but results of unconditional and conditional logistic regression were again comparable.

For simulations we generated a cohort of comparable size and percentage of events similar to those observed for real data. The smallest bias of explanatory variables' regression coefficient was found in case of retrospective cohort study with adjustment for confounding. The same study had the best statistical power, which was expected, since cohort study had larger sample size than case-control study. We would like to emphasise that with case-control study we obtained results that were comparable to those from cohort study, or at least they approached them increasing the number of controls. We do not recommend use of case-control study when the explanatory variable of interest and confounding variable are highly correlated, which causes overmatching and consequently regression coefficients are underestimated and statistical power is very low. Simulation results supported our suppositions that there is practically no difference in results of unconditional and conditional logistic regression. The only slight difference that we observed was in statistical power, where unconditional logistic regression performed slightly better.

**Key words:** retrospective cohort study, case-control study, tick-borne meningo-encephalitis, odds ratio

# 1 Uvod

Raziskovalci se na področju medicine in tudi nekaterih drugih področjih pogosto srečujejo s študijami, kjer so za skupino bolnikov ob začetku zbiranja podatkov že znani izid, prisotnost dejavnikov tveganja in druge značilnosti. Analizam, ki nam omogočajo raziskovanje dejavnikov tveganja ob že poznanem izidu pravimo retrospektivne analize oziroma študije. Pri retrospektivni analizi redkih bolezni lahko uporabimo dva različna pristopa: retrospektivno kohortno študijo ali študijo s kontrolno skupino.

V primeru retrospektivne kohortne študije vključimo v raziskavo vse posameznike z določeno lastnostjo (skupino posameznikov z določeno letnico rojstva, skupino posameznikov, zdravljenih v določeni ustanovi v nekem obdobju, itd.). V medicinskih retrospektivnih analizah so podatki o kohorti običajno pridobljeni s pregledom obstoječe medicinske dokumentacije. Pri analizi podatkov med seboj primerjamo majhno skupino udeležencev z redko boleznijo in veliko večjo primerjalno skupino brez te redke bolezni.

V primeru redkih bolezni se pogosteje uporabijo študije s kontrolno skupino. Pri tem se vsakemu udeležencu z redko boleznijo poišče eno ali več kontrol. Kontrole so, znotraj ciljne populacije, izbrane slučajno ali glede na vnaprej določene kriterije usklajevanja. V določenih primerih to pomeni zamudno ročno iskanje ujemanj, po drugi strani pa lahko z usklajevanjem zmanjšamo vpliv motečih spremenljivk. Pri študijah s kontrolno skupino je običajno skupno število posameznikov, vključenih v raziskavo, bistveno manjše v primerjavi z retrospektivno kohortno študijo.

V nalogi želimo pokazati, da kljub pogostejšemu srečevanju s študijjo s kontrolno skupino, lahko z obema omenjenima študijama pridemo do enakovrednih rezultatov. Hkrati bi radi pokazali, da vpliv motečih spremenljivk lahko na relativno enostaven način zmanjšamo tudi z uporabo retrospektivne kohortne študije. V večini situacij bi bila retrospektivna kohortna študija enostavnejša in hitrejša, vendar bomo izpostavili tudi situacije, kjer bi bilo bolj smiselno in učinkovito uporabiti študijo s kontrolno skupino.

Cilj naše naloge je pridobiti in primerjati rezultate retrospektivne kohortne študije in študije s kontrolno skupino na dejanskih podatkih bolnikov s klopnim meningoencefalitisom, pri čemer bomo uporabili univariatno in multiplo logistično regresijo. Pri študiji s kontrolno skupino si bomo pogledali še razliko med rezultati nepogojne in pogojne logistične regresije. Določene domneve bomo podkrepili z uporabo simulacij, ki bodo imele poudarek na vplivu motečih spremenljivk. Pri analizi dejanskih podatkov in pri simulacijah bo uporabljen programski jezik R [4].

## 2 Metode za analizo dejanskih podatkov

V tem poglavju bomo na kratko opisali vrste opazovalnih študij in najpogosteje uporabljene statistične metode za njihovo analizo. Opisali bomo tudi dejanske podatke o klopnem meningoencefalitisu, ki bodo uporabljeni v nadaljevanju naloge.

### 2.1 Vrste študij v medicini

Analitične študije so zasnovane za pridobivanje sklepov o domnevnih povezavah med dejavnikom tveganja (ang. risk factor) in izidom. Analitične študije torej identificirajo in merijo ali ocenjujejo povezave, testirajo hipoteze, identificirajo vzroke ter določajo, ali obstajajo povezave med določenimi spremenljivkami, kot na primer med izpostavljenostjo in boleznijo. S statističnimi prijemi se ugotavlja, ali se kakšna povezava kaže zgolj slučajno. Pri analitičnih študijah se pogosto med seboj primerja dve ali več skupin oziroma sklopov podatkov [5].

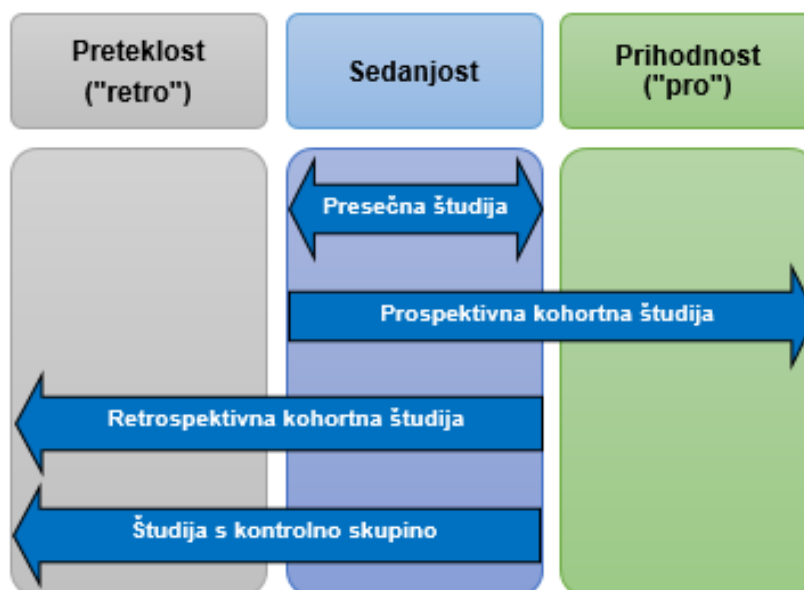
Pod analitične študije spadajo opazovalne in eksperimentalne študije. Pri eksperimentalnih študijah na določen način posegamo v njihov potek. Na primer tako, da med vsemi udeleženci študije naključno izberemo vzorec in zgolj te izbrane udeležence izpostavimo nekemu vplivu. Nato opazujemo, kakšne so razlike med izpostavljenimi in neizpostavljenimi udeleženci oziroma kako izpostavljenost vpliva na izid pri udeležencih. Želimo si dobiti oceno povezave med dejavnikom

tveganja in izidom. Se pravi oceno povezave med izpostavljenostjo in boleznijo, bolezenskimi znaki oziroma nekim drugim izidom [6].

Razlika med eksperimentalnimi in opazovalnimi študijami je v tem, da pri opazovalnih študijah potek zgolj opazujemo. Ker pri opazovalnih študijah na potek nimamo vpliva, imajo opazovalne študije v primerjavi z eksperimentalnimi večjo možnost za metodološke težave. V nadaljevanju so podani primeri, kjer je smiselno izbrati opazovalno in ne eksperimentalne študije. Prvi primer oziroma razlog za to je, da pri določenih raziskovalnih vprašanjih eksperimentalne študije niso ustrezne, ker ni etično izpostaviti podskupine udeležencev nekemu dejavniku tveganja. Primer takega vprašanja je vpliv zdravila na nosečnice, kjer drugega kot zgolj opazovati ne moremo narediti. Zagotovo v takem primeru ne bomo naključno izbirali, kateri od nosečnic bomo predpisali zdravilo in kateri ne, temveč bo zdravilo dobila tista nosečnica, ki ga potrebuje. Torej nimamo nobenega vpliva na to, kdo bo izpostavljen vplivu zdravil. Drugi razlog za izbiro opazovalne študije je, da so eksperimentalne študije praviloma časovno veliko zahtevnejše in potrebujejo večji finančni vložek. Pogosto se zgodi, da raziskovalci najprej uporabijo opazovalno študijo, kjer vidijo, na kaj morajo biti posebej pozorni, in šele nato načrtujejo ter izvedejo eksperimentalno študijo. V večini takih primerov se izkaže, da eksperimentalna študija potrди rezultate opazovalne študije [6].

Pod opazovalne študije uvrščamo presečno študijo (ang. cross-sectional study), kohortno študijo (ang. cohort study) in študijo s kontrolno skupino (ang. case-control study). Omenjene študije se, med drugim, razlikujejo v času opazovanja, kar je prikazano na sliki 2.1. Tako nas pri presečni študiji zanima trenutno stanje in pri študiji s kontrolno skupino to kar se je že zgodilo. Pri kohortni študiji ločimo dve možnosti: lahko spremljamo, kaj se bo zgodilo, ali gledamo, kaj se je že zgodilo.

Pri opazovalnih študijah so izidi pogosto opisne, dihonomne spremenljivke. Manj pogosto govorimo o številskem izidu. Pri tovrstnih študijah se najpogosteje uporablja sledeče mere povezanosti med izidom in dejavnikom tveganja: tveganje,



Slika 2.1: Časovni prikaz opazovalnih študij (povzeto po viru [1]).

stopnja (ang. rate), prevalenca in obet, ki bodo na kratko opisane v nadaljevanju. Opisali bomo tudi najpogosteje uporabljene statistične metode za analizo opazovalnih študij, kjer je izid dihotomna spremenljivka.

V nalogi bomo podrobneje obravnavali študijo s kontrolno skupino in retrospektivno kohortno študijo. V praktičnem delu naloge presečna študija ne bo uporabljena, ker pa jo bomo večkrat omenili v nadaljnjem teoretičnem delu, jo bomo vseeno na kratko predstavili.

### 2.1.1 Presečna študija

Podatke za presečno študijo pridobimo v eni časovni točki ali jih zbiramo skozi kratko časovno obdobje. Udeležence izberemo glede na predhodno določene kriterije vključitve oziroma izključitve. Torej pri izbiri ne gledamo na izpostavljenost nekemu dejavniku tveganja ali na izid, ki nas zanima [7].

Kot je bilo že navedeno, nas pri opazovalnih študijah zanima predvsem povezava med dejavnikom tveganja in izidom. Zavedati se moramo, da smo pri

presečnih študijah omejeni zgolj na eno časovno točko, iz katere ne moremo sklepati na vzročno povezavo, saj obstaja verjetnost, da bi ob izbiri kakšne druge časovne točke dobili drugačne rezultate. Vsekakor pa so rezultati presečne študije lahko dobra osnova za postavljanje hipotez o povezavi med dejavnikom tveganja in izidom [1].

Ko imamo zbrane podatke udeležencev študije, hkrati naredimo meritve oziroma ocene za izpostavljenost dejavniku tveganja in za izid. Najpogosteje merimo prevalenco izida ali ocenjujemo razmerje obetov [7].



Slika 2.2: Shema presečne študije.

Prevalenco izračunamo po enačbi (2.1), o razmerju obetov pa bomo več povedali v poglavju Razmerje obetov.

$$Prevalenca = \frac{\text{število vseh udeležencev z izidom}}{\text{število vseh udeležencev}}. \quad (2.1)$$

Študija je, na primer, uporabna pri anketiranju, ki temelji na populaciji. Če pri vzorčenju iz populacije uporabimo eno od metod naključnega vzorčenja, lahko pogosto rezultate posplošimo na populacijo. Pri tem moramo biti pozorni na dve težavi. Prva težava je neodgovarjanje izbranih anketirancev. Druga težava je pristranskost odgovorov. O tem, kako zmanjšati število neodgovorov in kako pridobiti čim bolj nepristranske odgovore, je seveda potrebno razmisliti že pred začetkom zbiranja podatkov [1].

Na področju medicine se presečna študija vedno pogosteje uporablja pri kliničnih študijah in pri ocenjevanju javnega zdravja [1].



### 2.1.2 Kohortna študija

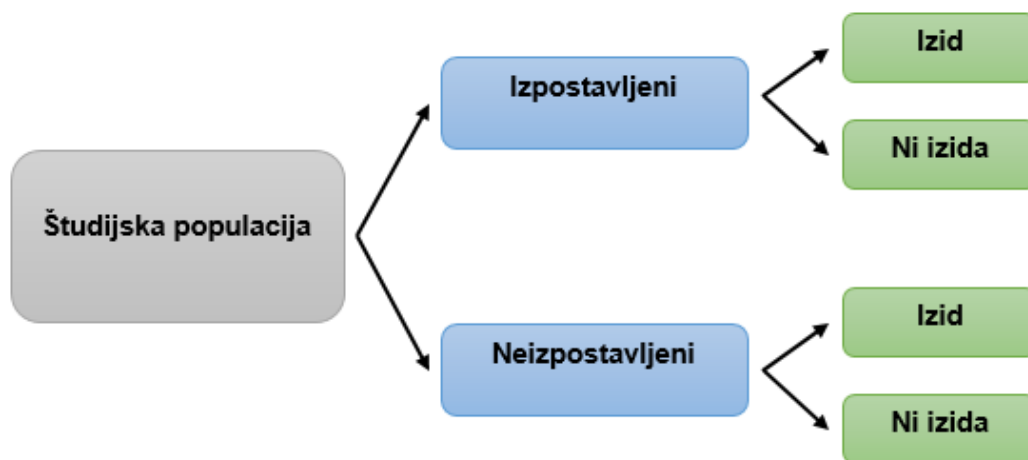
Izraz kohorta (ang. cohort) izvira iz latinske besede *cohors*. Kohorta je bila taktična vojaška enota rimske vojske, ki jo lahko primerjamo z današnjim bataljonom [8]. Izraz se v medicini prvič pojavi leta 1935, ko je epidemiolog Wade Hampton Frost objavil članek o preučevanju smrtnosti zaradi tuberkuloze v povezavi s starostjo [9]. S tem izrazom je definiral skupino ljudi, ki jo spremljamo skozi neko časovno obdobje. Danes ta izraz v medicini predstavlja skupino ljudi s skupno izkušnjo ali značilnostjo, na primer letom rojstva, ki jo spremljamo skozi čas, da lahko določimo stopnjo pojava določene bolezni, smrtnost zaradi te bolezni, vzroke smrti ali nek drug izid [10].

Pri kohortnih študijah opazovani izid določimo glede na izpostavljenost udeležencev študije nekemu dogodku oziroma dejavniku tveganja. Ker so kohortne študije velikokrat dolgotrajne in drage, raziskovalci pogosto najprej uporabijo eno od hitrejših in cenejših študij, kot je na primer presečna študija, da raziščejo primernost postavljene hipoteze [10] [11, stran 165–187].

Pri izbiri študijske populacije moramo, poleg izpostavljenosti želenemu dejavniku tveganja, misliti na praktičnost in možne omejitve izbrane populacije. Kohorto lahko predstavljajo prebivalci določenega območja, člani neke organizacije, zaposleni v istem podjetju in podobno. Kohorta je lahko celotna študijska populacija ali zgolj reprezentativen vzorec izbrane populacije. Ker študijsko populacijo izbiramo glede na izpostavljenost, je ta študija med drugim primerna za raziskave, kjer imamo redko izpostavljenost [11, stran 165–187]. Primer take raziskave bi bilo preučevanje povezave med uporabo pesticidov v kmetijstvu in pojavom raka. Še ena od prednosti kohortnih študij je, da lahko glede na en dejavnik tveganja opazujemo več izidov hkrati. Primer tega je opazovanje različnih zdravstvenih težav, kot na primer posledica atomske bombe na Japonskem [2]. V primeru redkega izida potrebujemo zadosti velik vzorec za izključitev možnosti, da je prikazana povezava med dejavnikom tveganja in izidom zgolj naključna [10].

Ko imamo določena dejavnika tveganja in študijsko populacijo, je naslednji

korak določanje primerjalne skupine (ang. comparison group). To je skupina, ki ni bila izpostavljena dejavniku tveganja. Neizpostavljena skupina naj bi bila glede na opazovane dejavnike čim bolj podobna izpostavljeni skupini. V popolnem primeru je edina razlika med skupinama izpostavljenost. Izbrane kohorte so večinoma heterogene in jih lahko preprosto razdelimo na dva dela, ki se razlikujeta v izpostavljenosti. V primeru, da je izbrana kohorta homogena, se pravi so vsi v kohorti izpostavljeni, je potrebno neizpostavljeno skupino poiskati izven kohorte. Pri tem še vedno velja, da si morata biti skupini izpostavljenih in neizpostavljenih čim bolj podobni. Možno je, da med seboj ne primerjamo samo dveh, temveč več skupin. To je uporabno predvsem takrat, ko nas zanima primerjava med različnimi stopnjami izpostavljenosti ali ko pričakujemo, da nam primerjava zgolj dveh skupin ne bo podala zadovoljivih rezultatov [11, stran 165–187].



Slika 2.3: Shema kohortne študije (povzeto po viru [2]).

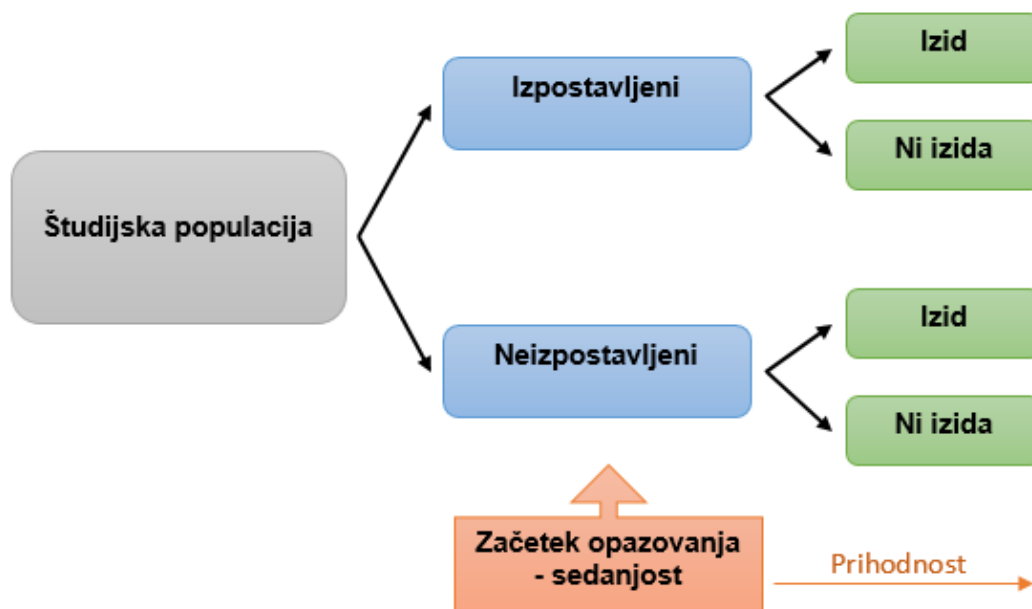
Pri izbiri primerjalne skupine moramo biti pazljivi, da ne pride do pristranskosti pri izbiri (ang. selection bias). To se zgodi, če se skupini poleg dejavnika tveganja razlikujeta še v dodatnem dejavniku, ki je povezan z izidom [6].

Ločimo dve vrsti kohortnih študij. To sta prospektivna in retrospektivna kohortna študija (ang. prospective cohort study, retrospective cohort study).

### 2.1.2.1 Prospektivna kohortna študija

Pri prospektivni kohortni študiji udeležence izberemo glede na trenutno izpostavljenost ali na izpostavljenosti v bližnji preteklosti. Udeležence nato spremljamo skozi čas do pojava izida. Dobra stran tovrstne študije je, da imamo nekaj vpliva na to, koga želimo spremljati v raziskavi in da imamo možnost spremljati, ali se res pridobivajo vsi želeni podatki. Študija ima tudi slabe plati. Kot smo že omenili, je potrebno udeležence spremljati skozi čas. Obdobje spremljanja je lahko zelo dolgo, na primer pri kakšni bolezni z dolgo latentno dobo. Daljše kot je obdobje spremljanja, večja je možnost, da se udeleženci odločijo prenehati sodelovati v raziskavi. Poleg tega je potreben velik finančni vložek [10].

Zaradi zgoraj omenjenih razlogov, se raziskovalci pogosto odločijo, da bodo hipoteze postavili s hitrejšimi in cenejšimi študijami ter šele nato uporabijo prospektivno kohortno študijo [11, stran 165–187].



Slika 2.4: Shema prospektivne kohortne študije (povzeto po viru [2]).

V primeru, da že vnaprej dobro premislimo o vseh možnih težavah, so rezultati tako zastavljenih študij lahko zelo zanesljivi. Ena od že omenjenih možnih težav je

prenehanje sodelovanja udeležencev tekom raziskave oziroma izguba stika z njimi. Tako že pred začetkom iz raziskave izključimo ljudi, za katere sumimo, da jih ne bomo mogli spremljati dlje časa. Pri tistih, za katere se odločimo, da jih vključimo v raziskavo, pridobimo čim več kontaktnih informacij: naslov, telefonsko številko, e-poštni naslov. Med raziskavo se trudimo vzdrževati čim pogostejši stik z njimi. Zaželeno je, da stik vzdržujemo tudi preko kakšnih obvestil o napredku raziskave ali s kakšnimi promocijskimi darili [10].

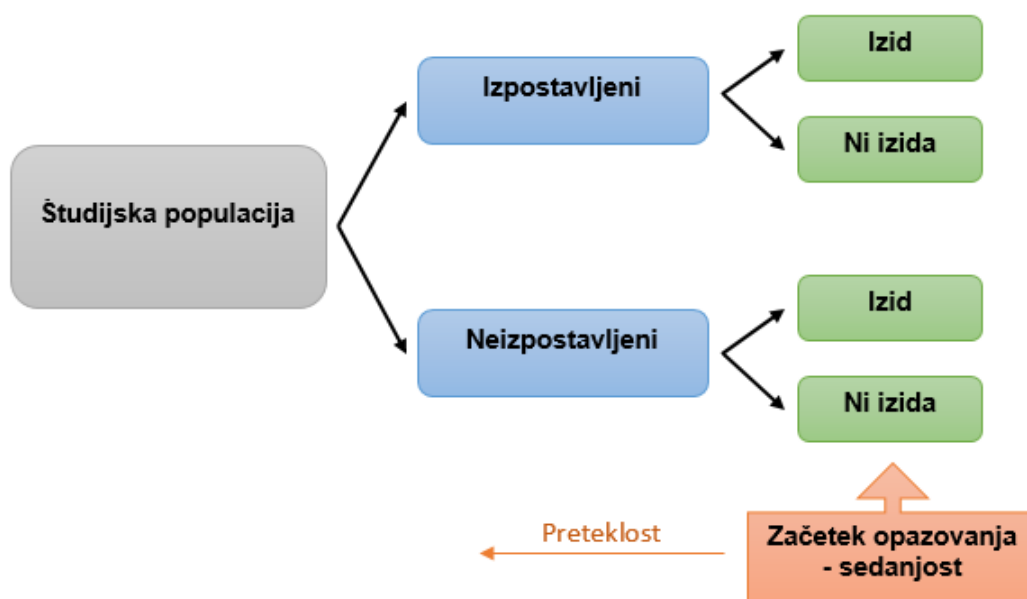
Primer prospektivne kohortne študije predstavlja raziskava, v katero vključimo 5-letne otroke, ki živijo v istem okolišu. Razdelimo jih v dve skupini glede na to, ali uporabljajo vodo iz domnevno okuženega vira ali pa uporabljajo nek drug vir vode. Po dveh tednih preverimo, ali je kateri od otrok v tem času imel težave s prebavo oziroma diarejo [12].

Najbolj znana prospektivna kohortna študija je Framinghamska študija o srčnih boleznih. Študija, katere začetki segajo v leto 1948 in traja še danes, raziskuje bolezni srca in ožilja ter dejavnike tveganja na tem področju [11, stran 165–187].

### **2.1.2.2 Retrospektivna kohortna študija**

Pri prospektivni kohortni študiji smo podatke o udeležencih zbirali od trenutka izpostavljenosti dejavniku tveganja dalje, v prihodnost. Pri retrospektivnih študijah podatke zbiramo od izida do izpostavljenosti, v preteklost. Torej v sedanosti že imamo podatek o tem, ali je pri posameznem udeležencu prišlo do izida ali ne.

Podatke lahko zbiramo iz zdravniških zapisov, zapisov o zaposlenih, osebnih zapisov in še kje. Vsi zapisi so bili narejeni v preteklosti, zato raziskovalec na njih nima vpliva. To pomeni, da so pogosto pomanjkljivi, netočni, nekonsistentni. Čeprav zbrani podatki niso popolni, lahko domnevamo, da se točnost in popolnost podatkov ne razlikujeta med tistimi, pri katerih je prišlo do izida, in tistimi, pri katerih ni [11, stran 165–187].



Slika 2.5: Shema retrospektivne kohortne študije (povzeto po viru [2]).

V primerjavi s prospektivno kohortno študijo je retrospektivna študija lahko veliko cenejša in predvsem hitrejša. Zato je primerna za raziskave, kjer vnaprej vemo, da bi morali dolgo čakati na razvoj izida [10].

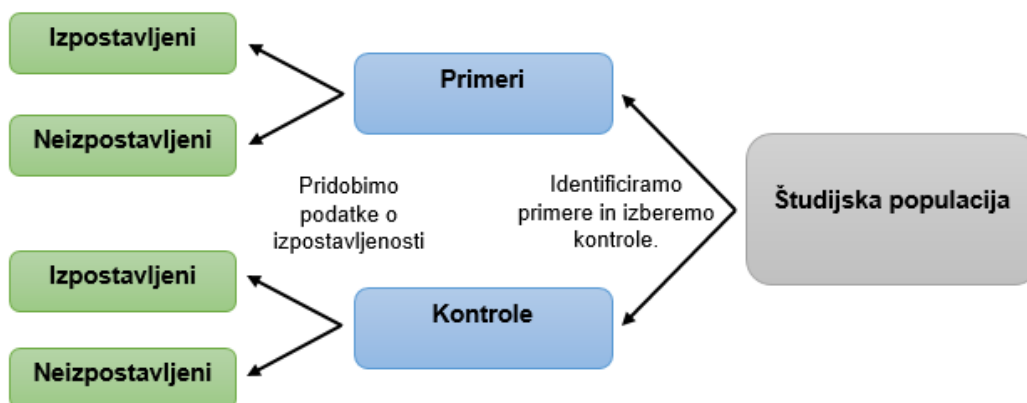
V medicini je retrospektivna kohortna študija uporabna predvsem na področju epidemiologije, kjer ni smiselno čakati na rezultate prospektivne študije, ko sumimo, da ima izpostavljenost določenemu dejavniku tveganja lahko negativne posledice [11, stran 165–187].

### 2.1.3 Študija s kontrolno skupino

Pri študiji s kontrolno skupino je status izida znan že na začetku, torej gre za retrospektivno študijo. Iz študijske populacije na začetku izberemo reprezentativni vzorec udeležencev pri katerih je prišlo do izida. To so naši primeri. Izberemo jih glede na vnaprej določene kriterije vključitve oziroma izključitve, ki pripomorejo k želeni homogenosti skupine primerov. Sledi izbira kontrolne skupine oziroma kontrol. Pomembno pri izbiri kontrolne skupine je, da ima enako porazdelitev iz-

postavljenosti kot skupina primerov. To običajno dosežemo že s tem, da kontrole izbiramo iz iste študijske populacije kot primere. Prav tako moramo upoštevati enake kriterije vključitve oziroma izključitve kot pri izbiri primerov. Razlika med primeri in kontrolami je v tem, da pri kontrolah ni prišlo do izida, je pa zaželeno, da ima oziroma je imela kontrolna skupina tveganje za razvoj izida [10].

Ko imamo izbrane vse udeležence študije, začnemo z zbiranjem podatkov, in sicer nas zanimajo podatki iz preteklosti, ki jih najpogosteje pridobimo z anketiranjem udeležencev ali iz različnih zapisov, kot so na primer zdravniški zapisi. Študija s kontrolno skupino omogoča, da lahko določimo in raziščemo več dejavnikov tveganja, za katere domnevamo, da so povezani z izbranim izidom. To ni edini primer, ko je smiselno uporabiti študijo s kontrolno skupino. Ker udeležence izbiramo glede na izid, je študija uporabna v primeru redkega izida. Pri kohortnih študijah bi v takem primeru potrebovali veliko večji vzorec. Študija s kontrolno skupino pa je, tako kot kohortna študija, uporabna tudi v primeru izidov z dolgo latenčno dobo [10].



Slika 2.6: Shema študije s kontrolno skupino (povzeto po viru [2]).

Prve zamatke študije s kontrolno skupino najdemo v raziskavi Jane Lane Claypon, ki je leta 1926 objavila raziskavo o dejavnikih tveganja za razvoj raka na dojkah. Študija se je nato še kar nekaj let razvijala. Bolj opazna je postala šele leta 1950, ko je bil objavljen članek o povezavi med kajenjem in pljučnim

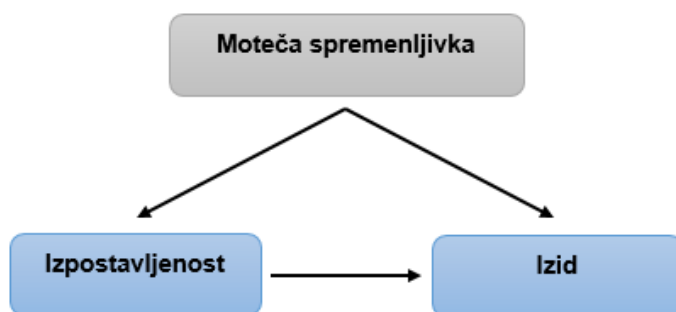
rakom, katerega avtorja sta Richard Doll in Bradford Hill [10].

Pri kohortnih študijah smo omenili pristranskost pri izbiri. Podobno se lahko zgodi pri študijah s kontrolno skupino. Razlika je, da moramo tu biti pozorni, da se skupini poleg izida ne razlikujeta še v kakšnem dejavniku, ki je povezan z izpostavljenostjo oziroma dejavnikom tveganja. To ni edina pristranskost, na katero moramo biti pri študijah s kontrolno skupino pozorni. Ker večina podatkov pri študiji temelji na odgovorih udeležencev, lahko pride do spominske pristranskosti (ang. recall bias). To pomeni, da pride do razlik v odgovorih primerov in kontrol, saj se primeri zaradi izkušenj z izidom velikokrat podzavestno bolje spominjajo izpostavljenosti. V primeru, da podatke pridobivamo preko anketiranja, moramo paziti, da ne pride do pristranskosti izpraševalca (ang. interviewer bias). To se zgodi, če izpraševalec uporabi drugačen pristop pri primerih in kontrolah. Zato je potrebno postaviti standardiziran vprašalnik in zagotoviti izkušenega izpraševalca [6] [10].

## 2.2 Moteča spremenljivka

V primeru opazovalnih študij izpostavljenost dejavniku tveganja med udeleženci ni določena naključno. To lahko povzroči, da je med izpostavljeno in primerjalno skupino, poleg opazovane, še kakšna druga razlika. Ta razlika je lahko spremenljivka, ki vpliva tako na izpostavljenost kot tudi na izid. Taki spremenljivki pravimo moteča spremenljivka (ang. confounding variable).

Primer moteče spremenljivke: preučujemo povezavo med vrstnim redom rojstva otroka (je to prvi, drugi, tretji otrok) in prisotnostjo Downovega sindroma. V tem primeru je moteča spremenljivka starost matere ob rojstvu otroka. Višja starost matere je neposredno povezana s pojavitvijo omenjenega sindroma. Prav tako je starost matere povezana z vrstnim redom rojstva otroka, saj je pri rojstvu drugega otroka starejša kot pri rojstvu prvega. Pri tem vemo, da je starost matere povezana s sindromom neodvisno od vrstnega reda rojstva otroka, saj je



Slika 2.7: Moteča spremenljivka (povzeto po viru [3]).

pri določeni starosti matere tveganje za pojav sindroma enako ne glede na to, ali gre za prvega ali drugega otroka. In vemo tudi, da starost matere ni posledica vrstnega reda rojstva otroka [3].

Pri določanju moteče spremenljivke moramo biti pazljivi, saj je lahko spremenljivka, ki na prvi pogled deluje kot moteča spremenljivka, zgolj vmesni korak med izpostavljenostjo in izidom. Recimo, da nas zanima vpliv teže posameznika na razvoj koronarne srčne bolezni. Udeleženci s prekomerno težo so primeri, ostali udeleženci so primerjalna oziroma kontrolna skupina. Vemo, da je povišana vrednost holesterola povezana tako z debelostjo kot tudi s koronarno srčno boleznijo, vendar se hkrati zavedamo, da je povišana vrednost holesterola lahko posledica debelosti in zato zgolj vmesni korak med izpostavljenostjo in izidom [6].

Obstajajo metode, s katerimi lahko omejimo vpliv moteče spremenljivke. Te metode so: omejitev (ang. restriction), usklajevanje, stratifikacija in uporaba modela multiple regresije. Vendar pa lahko omenjene metode uporabimo le, če je moteča spremenljivka poznana in če pri zbiranju podatkov vključimo natančne podatke o njej [6].

## Omejitev

V primeru omejitve vpliv moteče spremenljivke zmanjšamo tako, da študijsko populacijo omejimo zgolj na udeležence, ki imajo točno določeno vrednost ome-



njene spremenljivke. S tem onemogočimo možnost, da bi rezultate posplošili na celotno študijsko populacijo [6].

V zgornjem primeru smo rekli, da je moteča spremenljivka starost matere ob rojstvu otroka. Vpliv moteče spremenljivke bi lahko poskusili zmanjšati z omejitvijo starosti. Na primer, domnevamo, da je največ rojstev ob materini starosti med 25 in 35 let, zato gledamo zgolj podatke s to omejitvijo.

## Usklajevanje

Pri usklajevanju je potrebno poudariti, da z njim ne odpravimo vpliva moteče spremenljivke, temveč ga le zmanjšamo oziroma omejimo [13]. Usklajevanje uporabimo na spremenljivkah, za katere domnevamo, da so moteče spremenljivke, in ne na kakšnih drugih poljubnih spremenljivkah. Usklajevalne spremenljivke so lahko tako kategorične kot številske, najpogosteje sta to starost in/ali spol. Paziti moramo, da je usklajevalna spremenljivka močno povezana z izidom in ne z izpostavljenostjo (dejavnikom tveganja). V takem primeru bomo z usklajevanjem izboljšali učinkovitost študije. V nasprotnem primeru bomo učinkovitost zmanjšali, čemur pravimo prekomerno usklajevanje (ang. over-matching) [14].

V primeru usklajevanja bo usklajevalni načrt (ang. matched design) skoraj vedno potreboval nadzor (ang. controlling) za usklajevalne spremenljivke, ne pa tudi nujno usklajevalne analize (ang. matched analysis). Pravzaprav naj bi enostavnejša, standardna analiza vračala rezultate z boljšo statistično natančnostjo. Usklajevalna analiza naj bi bila potrebna zgolj, ko se ukvarjamo z majhnim številom podatkov ali ko gre za usklajevanje na individualni ravni [13]. Če v primeru takih podatkov ne uporabimo usklajevalne analize, naj bi s tem zmanjšali veljavnost primerjave med primeri in kontrolami ter kot rezultat analize dobili pristransko razmerje oboj [14].

V praktičnem delu naloge nas bo pri študiji s kontrolno skupino zanimalo predvsem individualno usklajevanje. To pomeni, da za vsak posamezen primer najdemo skladno oziroma ujemajočo kontrolo. Posamezen primer ima lahko več

ujemajočih kontrol. Pravzaprav s tem, ko mu določimo več kontrol, izboljšamo statistično moč študije. Vendar pa se izboljšanje moči pozna le do razmerja 1:4 [14].

Usklajevanje ima tudi nekaj slabosti. Za začetek je finančno zahtevno in za iskanje dobrih ujemkov lahko porabimo veliko časa. Uporaba usklajevanja nam onemogoča, da bi raziskali vpliv moteče spremenljivke na izid [14].

## **Stratifikacija**

Stratifikacija pomeni, da študijsko populacijo razdelimo na nekakšne podskupine, stratum. Stratum tako tvorijo posamezniki s skupno značilnostjo. Pri analizi podatkov opravimo analizo na vsakem stratumu posebej [6]. Paziti moramo, da študijske populacije ne razdelimo na premajhne stratum, saj bi s tem dobili nezanesljive rezultate oziroma bi morali razmisliti o uporabi usklajevalne analize.

V primeru individualnega usklajevanja to pomeni, da vsak primer s svojo kontrolo ali več kontrolami tvori posamezni stratum. V primeru tako majhnih stratumov se hitro lahko zgodi, da zaradi kakšnih manjkajočih podatkov za analizo izgubimo celotni stratum. Posledično to lahko privede do slabše statistične natančnosti (ang. statistical precision) [14].

## **Model multiple regresije**

Model multiple regresije uporabimo, ko nas zanima vpliv večih pojasnjevalnih spremenljivk na en izid. V model hkrati vključimo izid, pojasnjevalne spremenljivke in domnevne moteče spremenljivke. Prednost takega modela je, da pri izračunu upošteva povezanost med spremenljivkami (govorimo o povezanosti med pojasnjevalnimi in motečimi spremenljivkami), kar omogoča omejitev vpliva motečih spremenljivk na izid. V model multiple regresije vključujemo zgolj spremenljivke, za katere domnevamo, da v realnosti predstavljajo smiselni sklop podatkov [6].

## 2.3 Mere povezanosti med izidom in dejavnikom tveganja

### 2.3.1 Relativno tveganje

Najpogosteje uporabljena relativna frekvenčna mera v kohortnih študijah je relativno tveganje.

Najprej definiramo kontingenčno tabelo velikosti 2x2 (tabela 2.1), ki prikazuje frekvenčno porazdelitev spremenljivk. S tako tabelo dobimo približen vpogled v povezavo med dvema spremenljivkama [15].

	Izid	Ni izida	Skupaj
Izpostavljenost	a	b	a+b
Ni izpostavljenosti	c	d	c+d
Skupaj	a+c	b+d	a+b+c+d

Tabela 2.1: Kontingenčna tabela.

Tabela 2.2 je kontingenčna tabela s podatki iz vira [15]. Gre za izmišljene podatke, kjer je dejavnik tveganja kajenje in izid razvoj pljučnega raka.

	Rak	Ni raka	Skupaj
Kadilci	12	238	250
Nekadilci	7	743	750
Skupaj	19	981	1000

Tabela 2.2: Kontingenčna tabela s podatki o kajenju in pljučnem raku.

Tveganje (ang. risk, R) je v statistiki rezultat, ki nam pove, kolikokrat se je zgodil opazovani izid v primerjavi z vsemi možnimi izidi [16]. Relativno tveganje (ang. relative risk, RR) je razmerje med tveganjem za izid v izpostavljeni skupini in tveganjem za izid v neizpostavljeni skupini [17].

Izračunamo relativno tveganje za pljučnega raka med kadilci glede na nekadilce (tabela 2.2):

$$RR = \frac{R(\text{rak}|\text{kadilec})}{R(\text{rak}|\text{nekadilec})} = \frac{\frac{a}{a+b}}{\frac{c}{c+d}} = \frac{\frac{12}{250}}{\frac{7}{750}} = 5,14.$$

Dobljeno razmerje pri relativnem tveganju interpretiramo na sledeči način:

- $RR = 1$ : med izpostavljeno in neizpostavljeno skupino ni razlike v tveganju za izid,
- $RR < 1$ : tveganje za izid je v neizpostavljeni skupini večje kot v izpostavljeni skupini,
- $RR > 1$ : tveganje za izid je v izpostavljeni skupini večje kot v neizpostavljeni skupini [17].

Relativno tveganje je relativna frekvenčna mera, ki je ne moremo uporabiti pri študijah, kjer izbira udeležencev temelji na izidu. Kar bo v nadaljevanju naloge pomenilo, da je ne moremo uporabiti pri študijah s kontrolno skupino [16].

### 2.3.2 Razmerje obetov

Obet (ang. odds,  $O$ ) nam pove, kolikokrat se je izid zgodil v primerjavi s tem, ko se izid ni zgodil [16].

Rezultate pri obetih interpretiramo kot:

- $O = 1$ : izid se zgodi v polovici primerov,
- $O < 1$ : izid se zgodi v manj kot polovici primerov,
- $O > 1$ : izid se zgodi v več kot polovici primerov [16].

V primeru, da bi nas zanimala primerjava med obeti za izid pri določeni izpostavljenosti v primerjavi z obeti, kjer ni izpostavljenosti dejavniku tveganja, bi izračunali razmerje obetov (ang. odds ratio, OR). Pri študiji s kontrolno skupino je razmerje obetov edina veljavna mera, ki jo lahko izračunamo. Lahko pa ga uporabimo tudi pri kohortnih študijah [18].

Izračunamo razmerje obetov za pljučnega raka med kadilci glede na nekadilce (tabela 2.2):

$$OR = \frac{O(rak|kadilec)}{O(rak|nekadilec)} = \frac{\frac{a}{b}}{\frac{c}{d}} = \frac{ad}{bc} = \frac{12 \cdot 743}{238 \cdot 7} = 5,35.$$

Rezultat razmerja obetov nam pove:

- $OR = 1$ : med izpostavljeno in neizpostavljeno skupino ni razlike v obetih za izid,
- $OR > 1$ : izpostavljena skupina ima večje obete za izid kot neizpostavljena skupina,
- $OR < 1$ : neizpostavljena skupina ima večje obete za izid kot izpostavljena skupina [18].

Med razmerjem obetov in relativnim tveganjem obstaja povezava:

$$RR = \frac{\frac{a}{a+b}}{\frac{c}{c+d}} = \frac{ad}{bc} \cdot \frac{\frac{b}{a+b}}{\frac{d}{c+d}} = OR \cdot \frac{\frac{b}{a+b}}{\frac{d}{c+d}} = OR \cdot \frac{1 - \frac{a}{a+b}}{1 - \frac{c}{c+d}}.$$

Vidimo, da sta RR in OR skoraj enaka, ko sta vrednosti  $\frac{a}{a+b}$  in  $\frac{c}{c+d}$  majhni, torej v primeru redkega izida. Takrat razmerje obetov lahko interpretiramo kot relativno tveganje, katerega interpretacija je enostavnejša oziroma lažje razumljiva.

## 2.4 Statistične metode za analizo podatkov pri opazovalnih študijah z dihotomnimi izidi

V tem poglavju bomo na kratko predstavili logistično regresijo, interval zaupanja, statistični test in statistično moč. Regresijske metode v tem poglavju so predstavljene za eno pojasnjevalno spremenljivko, vendar jih v primeru več pojasnjevalnih spremenljivk lahko razširimo.

### 2.4.1 Logistična regresija

Logistična regresija je najpogosteje uporabljen regresijski model za analizo dihotomnih izidov. Namen je poiskati model, ki najbolje opiše povezanost med izidom in pojasnjevalnimi spremenljivkami, ter oceniti verjetnost dogodka.

Recimo, da spremenljivka  $Y$  predstavlja status udeleženca ( $Y = 1$  za primere in  $Y = 0$  za kontrole). Verjetnost dogodka je podana z enačbo (2.2), kjer  $X$  predstavlja pojasnjevalno spremenljivko,  $\beta$  je regresijski parameter in  $\beta_0$  regresijska konstanta [14].

$$P(Y = 1|X) = \frac{e^{\beta_0 + \beta X}}{1 + e^{\beta_0 + \beta X}}. \quad (2.2)$$

Ocena obetov je torej:

$$O = \frac{P(Y = 1|X)}{1 - P(Y = 1|X)} = e^{\beta_0 + \beta X}. \quad (2.3)$$

Po uporabi logistične transformacije dobimo:

$$\log \frac{P(Y = 1|X)}{1 - P(Y = 1|X)} = \beta_0 + \beta X. \quad (2.4)$$

Enačbo za razmerje obetov lahko dobimo s pomočjo zgornje logistične transformacije, in sicer:

$$\frac{\log \frac{P(Y=1|X=1)}{1 - P(Y=1|X=1)}}{\log \frac{P(Y=1|X=0)}{1 - P(Y=1|X=0)}} = \frac{\beta_0 + \beta \cdot 1}{\beta_0 + \beta \cdot 0} = \beta.$$

Razmerje obetov je torej:

$$OR = e^\beta. \quad (2.5)$$

### Nepogojna logistična regresija

Za ocenjevanje regresijskega parametra  $\beta$  uporabimo metodo največjega verjetja [14]. Pri tem obravnavamo funkcijo verjetja v odvisnosti od neznanega

parametra (v našem primeru  $\beta_0$  in  $\beta$ ) pri izbrani verjetnostni porazdelitvi podatkov. Ocena največjega verjetja je tista vrednost parametrov, ki maksimizira funkcijo verjetja [19].

V primeru, da obravnavamo veliko število primerov in kontrol oziroma v primeru velikih stratumov, uporabimo nepogojno funkcijo verjetja (2.6), kjer  $n$  predstavlja skupno število udeležencev [14]. Takrat govorimo o nepogojni logistični regresiji ali samo o logistični regresiji.

$$L_{nep} = \prod_{j=1}^n \left( \frac{e^{\beta_0 + \beta X_j}}{1 + e^{\beta_0 + \beta X_j}} \right)^{Y_j} \left( \frac{1}{1 + e^{\beta_0 + \beta X_j}} \right)^{1 - Y_j}. \quad (2.6)$$

Pri analizi podatkov je za oceno rezultatov uporabljena funkcija glm, ki se jo v splošnem uporablja pri posplošenih linearnih modelih.

### Pogojna logistična regresija

Za ocenjevanje regresijskega parametra  $\beta$  uporabimo pogojno funkcijo verjetja (2.7) oziroma pogojno logistično regresijo, ko obravnavamo majhno število podatkov oziroma majhne stratumne, pomankljive podatke ali ko uporabimo usklajevanje [13]. V primeru individualnega usklajevanja (ang. individual matching) uporabimo funkcijo verjetja (2.8) [14].

$$L_{pog} = \frac{\prod_{j=1}^{n_1} e^{\beta X_j}}{\sum_l \prod_{j=1}^{n_1} e^{\beta X_j}}. \quad (2.7)$$

$$L_{pog} = \prod_{i=1}^k \frac{\prod_{j=1}^{n_{1i}} e^{\beta X_{ij}}}{\sum_{l_i} \prod_{j=1}^{n_{1i}} e^{\beta X_{l_i j}}}. \quad (2.8)$$

V enačbah (2.7) in (2.8)  $n_1$  predstavlja število primerov,  $l$  število možnih kombinacij izbora  $n_1$  števil iz množice števil od 1 do  $n$ ,  $k$  število stratumov,  $n_{1i}$  število primerov v  $i$ -tem stratumu,  $l_i$  število možnih kombinacij izbora  $n_{1i}$  števil iz množice  $\{1, 2, \dots, n_{1i} + n_{0i}\}$ , kjer je  $n_{0i}$  število kontrol v  $i$ -tem stratumu.

V primeru, da bi na podatkih z usklajevanjem uporabili nepogojno analizo, bi kot rezultat dobili pristransko razmerje obetov. V ekstremnem primeru bi bila dobljena ocena kvadrat ocene razmerja obetov pridobljene s pogojno analizo [20, stran 247–279].

Asimptotično, se pravi za veliko število primerov in kontrol, naj bi pri nepogojni in pogojni logistični regresiji dobili enake ocene in standardne napake [14].

Pri analizi podatkov za oceno regresijskega modela uporabimo funkcijo `clogit` iz knjižnice `survival` [21].

### **Problem ločenosti v logistični regresiji**

V primeru majhnega ali srednje velikega vzorca ter v primeru redkih dogodkov se v logistični regresiji lahko pojavi problem ločenosti, kar se zgodi, ko pojasnjevalna spremenljivka ali linearna kombinacija več pojasnjevalnih spremenljivk popolnoma loči dogodke od nedogodkov. Ocene parametrov, ki bi jih v taki situaciji želeli dobiti z metodo največjega verjetja, so nedefinirane, saj algoritem ne doseže konvergence [22].

Metoda, ki jo v takem primeru lahko uporabimo, je Firthova logistična regresija oziroma Firthov popravek. Omenjena metoda temelji na penalizaciji metode največjega verjetja, s čimer zmanjšamo pristranskost ocene [22]. V programskem jeziku R obstaja funkcija `logistf` iz knjižnice `logistf` [23], ki implementira Firtov popravek. Firthov popravek lahko uporabimo zgolj v primeru nepogojne logistične regresije in ne tudi v primeru pogojne logistične regresije.

#### **2.4.2 Interval zaupanja**

Natančnost ocene razmerja obetov lahko ocenimo z intervalom zaupanja (IZ). Ožji interval zaupanja predstavlja bolj natančno oceno. Interval zaupanja izračunamo po enačbi (2.9), kjer  $z$  predstavlja standardno vrednost iz normalne porazdelitve,  $\alpha$  stopnjo tveganja in  $\hat{SE}$  ocenjeno standardno napako. Najpogosteje računamo



95 % interval zaupanja. V primeru, da interval zaupanja vsebuje vrednost  $OR = 1$ , lahko interpretiramo, da rezultat ni statistično značilen pri stopnji tveganja  $\alpha$  [18].

$$IZ = e^{\hat{\beta} \pm z_{1-\frac{\alpha}{2}} \hat{SE}(\hat{\beta})} \quad (2.9)$$

Za izračun intervala zaupanja v enačbi (2.9) med drugim uporabimo oceno standardne napake za  $\hat{\beta}$  ter transformacijo, ki je nelinearna. To je razlog, da kot rezultat dobimo nesimetričen interval zaupanja. Simetričen interval zaupanja bi lahko dobili z uporabo enačbe (2.10), kjer  $\hat{SE}(\hat{OR})$  izračunamo po metodi delta (2.11). Potrebno se je zavedati, da s tem načinom izračuna lahko dobimo negativne vrednosti intervala zaupanja [24].

$$IZ = \hat{OR} \pm z_{1-\frac{\alpha}{2}} \hat{SE}(\hat{OR}) \quad (2.10)$$

$$\hat{SE}(\hat{OR}) = e^{\hat{\beta}} \cdot Var(\hat{\beta}) \cdot e^{\hat{\beta}} \quad (2.11)$$

### 2.4.3 Statistični test

Statistični test, ki ga bomo uporabili v tej nalogi, bo Waldov test. S testom testiramo ničelno hipotezo  $H_0 : \beta = \beta_H$ , pri čemer je običajno  $\beta_H = 0$ . Pri neničelni standardni napaki za  $\hat{\beta}$  ima testna statistika

$$z = \frac{(\hat{\beta} - \beta_H)}{\hat{SE}(\hat{\beta})} \quad (2.12)$$

približno standardno normalno porazdelitev, ko velja  $\beta = \beta_H$ . Ta lastnost nam omogoča, da na podlagi vrednosti  $z$  pridobimo vrednost  $p$ . V primeru dvostranske alternativne hipoteze ima  $z^2$  porazdelitev  $\chi_1^2$  [19].

#### 2.4.4 Statistična moč in velikost testa

Pri testiranju hipoteze alternativna hipoteza  $H_A$  predstavlja trditev, da ničelna hipoteza  $H_0$  ne drži [25]. Če pri testiranju hipoteze zavrnemo  $H_0$ , ki v populaciji pravzaprav drži, govorimo o napaki 1. vrste. Verjetnost napake 1. vrste, z drugimi besedami stopnjo tveganja, označimo z  $\alpha$ . Obstaja tudi možnost, da  $H_0$  ne zavrnemo, čeprav ne drži. To je napaka 2. vrste in verjetnost napake 2. vrste označimo z  $\beta$  [26].

V primeru, da je alternativna hipoteza pravilna, je statistična moč verjetnost, da bomo pravilno zavrnili ničelno hipotezo [25]. Statistično moč v tem primeru izračunamo kot  $1 - \beta$  [27].

O statistični moči je priporočljivo razmišljati pred začetkom študije, saj v nasprotnem primeru lahko testiramo hipotezo z nizko močjo, kar posledično pomeni veliko vrednost  $p$  in širok interval zaupanja. V tem primeru nam študija ne poda zelenega odgovora. Moč je povezana z velikostjo vzorca in velikostjo učinka. Moč je večja pri velikih vzorcih in velikih učinkih ter pri manj variabilnih podatkih [25].

V primeru, da računamo statistično moč post-hoc (naknadno, ko imamo že zbrane podatke), lahko pričakujemo nizke vrednosti le-te. Ko so rezultati statistično neznačilni (vrednost  $p$  je višja od stopnje tveganja  $\alpha$ ), pričakujemo statistično moč okoli 50 % ali nižje. Tudi v primeru, ko dobimo statistično značilen rezultat, bo vrednost statistične moči nizka, do 70 %. Post-hoc rezultati so lahko tudi koristni. Na primer, če pripravljamo novo študijo in pred tem naredimo analizo na že zbranih podatkih, nam to lahko pomaga pri vprašanju, kako velik vzorec potrebujemo [25].

Pri analizi podatkov je vključen tudi izračun statistične moči (post-hoc). Pomagali smo si s funkcijama `powerLogisticBin` in `powerLogisticCon` iz knjižnice `powerMediation` [28]. Prvo funkcijo smo uporabili v primeru dihotomne pojasnjevalne spremenljivke in drugo v primeru številске pojasnjevalne spremenljivke.

## 2.5 Podatki o klopnem meningoencefalitisu

V praktičnem delu naloge so uporabljeni podatki Klinike za infekcijske bolezni in vročinska stanja Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. Podatki vključujejo bolnike, ki so jim diagnosticirali klopni meningoencefalitis (KME) oziroma so bili v akutni fazi bolezni med vključno letoma 2007 in 2012. Poleg informacij, pridobljenih ob sprejemu v bolnišnico, podatki vsebujejo še informacije, pridobljene ob kontrolnih pregledih po 2, 6, 12 mesecih in ob zadnjem kontrolnem pregledu, ki je bil izveden od 2 do 7 let po akutni fazi bolezni.

Podrobneje smo se posvetili analizi dejavnikov, ki določajo težo akutne bolezni. To pomeni, da so nas zanimale informacije, pridobljene ob prvem sprejemu v bolnišnico. V raziskavo je bilo vključenih 420 bolnikov.

Dejavniki, ki določajo težo akutne bolezni:

- starost,
- spol,
- spremljajoče bolezni (da, ne),
- dvofazni potek bolezni (da, ne),
- število levkocitov v likvorju,
- koncentracija proteinov v likvorju,
- količnik albuminov in
- količnik IgG.

Ničelna hipoteza pri analizi vsakega posameznega dejavnika je, da v populaciji teža akutne bolezni klopnega meningoencefalitisa ni odvisna od posameznega dejavnika.

Pri analizi podatkov smo uporabili dve različni študiji, in sicer retrospektivno kohortno študijo ter študijo s kontrolno skupino. Zanimalo nas je, kakšna je razlika v rezultatih, ko študiji uporabimo na primeru redkih bolezni.

### 2.5.1 Izid raziskave

Izid raziskave je teža akutne bolezni. Kot rezultat spremenljivke *teža akutne bolezni* lahko dobimo tri oblike bolezni: meningitis, meningoencefalitis in meningoencefalomielitis. Pri meningitisu (M) govorimo o vnetju ovojnic osrednjega živčevja. Pri meningoencefalitisu (ME) vnetje ovojnic osrednjega živčevja spremlja še vnetje možganov. O meningoencefalomielitisu (MEM) govorimo, ko ima bolnik vnetje ovojnic osrednjega živčevja in možganov ter še vnetje hrbteničnih živcev [29, stran 55–62].

Glede na različna mesta obolenj oziroma vnetij se tudi znaki oblik bolezni razlikujejo med seboj. Pri meningitisu so najpogostejši znaki visoka vročina, glavobol, slabost, bruhanje in trd vrat. Pri meningoencefalitisu se poleg že omenjenih znakov pojavlja še tresenje rok ali jezika. Možne so tudi motnje zavesti, govora, ravnotežja ali vedenjske motnje. Za meningoencefalomielitis je značilno, da pride do ohromitev različnih mišičnih skupin [29, stran 55–62].

Za namen naše analize smo združili meningitis in meningoencefalitis v eno skupino ter meningoencefalomielitis obravnavali kot skupino z redko boleznijo. Izid raziskave je torej dihotomna spremenljivka z vrednostima meningitis+meningoencefalitis (M+ME) ter meningoencefalomielitis (MEM).

### 2.5.2 Pojasnjevalne spremenljivke

Pojasnjevalne spremenljivke lahko ločimo na opisne in številske. Pod opisne spremenljivke spadajo: *spol*, *spremljajoče bolezni* in *dvofazni potek bolezni*. Številske pojasnjevalne spremenljivke so: *starost*, *število levkocitov v likvorju*, *koncentracija proteinov v likvorju*, *količnik albuminov* in *količnik IgG*. Za vsako od njih smo

si pogledali opisno statistiko. Tako smo opisne spremenljivke povzeli s frekven-  
cami in odstotkom referenčne vrednosti ter številske spremenljivke z mediano in  
interkvartilnim razponom. Pri tem bi omenili, da referenčne vrednosti niso bile  
vnaprej določene, zato smo jih za lažjo interpretacijo rezultatov določili sami. Za  
vsako spremenljivko smo povzeli tudi morebitno število manjkajočih vrednosti.  
Za boljšo preglednost smo pri nekaterih spremenljivkah dodali grafični prikaz.

Pri spremenljivki *spremljajoče bolezni* so udeležence spraševali, ali imajo po-  
leg klopnega meningoencefalitisa še kakšne druge diagnosticirane bolezni (na pri-  
mer bolezni živčevja, srca, ožilja in podobno). Udeleženci so na to vprašanje  
odgovarjali z da ali ne.

Spremenljivka *dvofazni potek bolezni* nam pove, ali je bolezen potekala dvo-  
fazno (odgovor da) ali enofazno (odgovor ne). Bolezen naj bi v več kot dveh  
tretjinah primerov potekala dvofazno. Prva faza predvidoma traja od enega do  
osmih dni. V tem času so značilni simptomi, kot so vročina, bolečine v mišicah,  
slabost in glavobol. Možni simptomi so še bolečine v trebuhu, bruhanje in driska.  
Med prvo in drugo fazo, obdobjem, ki traja od enega do dvajsetih dni, ni izra-  
zitetih simptomov. V drugi fazi bolezni se pokažejo znaki prizadetosti osrednjega  
živčevja, ki so bili opisani pri izidu raziskave. V primeru, da gre za enofazni potek  
bolezni, ni vmesnega obdobja brez izrazitih znakov bolezni [29, stran 55–62].

Pri določitvi bolezni klopnega meningoencefalitisa so v veliko pomoč rezultati  
biokemičnih preiskav. Referenčna vrednost števila levkocitov (belih krvnih celic)  
v likvorju (cerebrospinalni tekočini) je do  $5/\mu\text{L}$ . Pri bolnikih s KME pričakujemo,  
da je število levkocitov v likvorju povišano. Spremenljivka nam pove število lev-  
kocitov v likvorju v akutni fazi bolezni. Pričakovana povprečna vrednost števila  
levkocitov v likvorju pri bolnikih s KME je okoli  $100/\mu\text{L}$  [30].

Z biokemičnimi raziskavami lahko določimo tudi koncentracijo proteinov v  
likvorju. Referenčna vrednost v tem primeru je od 0,15 do 0,45 g/L [30].

Ko govorimo o albuminih, govorimo o v vodi lahko topnih beljakovinah, sesta-  
vini številnih tkiv in krvne plazme [31]. Ko pa govorimo o količniku albuminov,

govorimo o oceni hitrosti pretoka cerebrospinalne tekočine oziroma o oceni delovanja krvno-možganske pregrade. V ta namen vzamemo parni vzorec venske krvi in cerebrospinalne tekočine. Količnik albuminov ( $Q_{Alb}$ ) ocenimo z Reiberjevim izračunom (2.13). Referenčna vrednost za  $Q_{Alb}$  je odvisna od starosti bolnikov. Vsaka vrednost nad referenčno vrednostjo predstavlja nenormalen rezultat in govorimo o upočasnjem pretoku cerebrospinalne tekočine oziroma o motenem delovanju pregrade med krvjo in cerebrospinalno tekočino zaradi vnetja [32].

$$Q_{Alb} = \frac{\text{albumin(likvor)}}{\text{albumin(serum)}} \quad (2.13)$$

Referenčne vrednosti za količnik albuminov (veljajo le za lumbalno punkcijo):

- < 15 let: <  $5 \times 10^{-3}$ ,
- < 40 let: <  $6,5 \times 10^{-3}$ ,
- < 60 let: <  $8 \times 10^{-3}$  [33].

Zadnja številka spremenljivka je *količnik IgG*. Imunoglobulin je beljakovina oziroma protitelo, ki deluje v imunskem procesu. Imunoglobulin razreda G (IgG) je predstavnik protiteles, ki se nahajajo povsod po telesu in so učinkovito obrambno sredstvo proti bakterijam, virusom in toksinom [31]. Količnik IgG ( $Q_{IgG}$ ) je še ena vrednost, s katero ocenjujemo delovanje krvno-možganske pregrade. Podobno kot pri količniku albuminov potrebujemo parni vzorec venske krvi in cerebrospinalne tekočine, nato pa ocenimo količnik z Reiberjevim izračunom (2.14) [32]. Pri količniku IgG se kot nenormalen rezultat, ki nakazuje na vnetje, obravnava vrednosti nad  $3,5 \times 10^{-3}$  [34].

$$Q_{IgG} = \frac{IgG(likvor)}{IgG(serum)} \quad (2.14)$$

### 2.5.3 Retrospektivna kohortna študija

Glede na zapisano v teoretičnem delu lahko v primeru redkih bolezni uporabimo retrospektivno kohortno študijo, če imamo dovolj veliko število udeležencev, da lahko izključimo možnost, da je prikazana povezava med dejavnikom tveganja in izidom zgolj naključna, z namenom, da ocenimo, kako so pojasnjevalne spremenljivke povezane z izidom.

Statistični metodi, ki smo ju uporabili pri tej študiji, sta univariatna in multipla logistična regresija. Pri univariatni logistični regresiji smo ocenili osem modelov, kjer smo ocenjevali odvisnost dihotomnega izida (oblika bolezni klopnega meningoencefalitisa) od posameznega dejavnika oziroma pojasnjevalne spremenljivke.

Starost in spol sta pogosto moteči spremenljivki. Iz tega razloga smo ocenili še šest modelov multiple logistične regresije, kjer smo v modelu predpostavljali, da je lahko izid, poleg posamezne pojasnjevalne spremenljivke, odvisen tudi od starosti in spola. Torej smo ocenili dodatne modele s popravkom za moteči spremenljivki *starost* in *spol*. Primerjava rezultatov teh modelov z rezultati modelov univariatne logistične regresije nam je pokazala pri katerih pojasnjevalnih spremenljivkah se vidi vpliv motečih spremenljivk in zakaj je pomembno uporabiti metode za omejitev vpliva motečih spremenljivk.

Ocenili smo tudi model multiple logistične regresije, kjer smo si hkrati pogledali povezanost med izidom in vsemi obravnavanimi pojasnjevalnimi spremenljivkami, vključno z domnevnima motečima spremenljivkama. Pri analizi takega modela smo opazili velik delež manjkajočih podatkov, zato smo postavili še dva dodatna modela multiple logistične regresije. Pri prvem smo imputirali povprečne vrednosti pojasnjevalnima spremenljivkama z največjim deležem manjkajočih podatkov in pri drugem smo omenjeni pojasnjevalni spremenljivki izključili iz modela. Namen dodatnih modelov je preveriti, ali ima delež manjkajočih vrednosti vpliv na rezultate.

Uporaba modela multiple regresije je najboljši pristop za analizo podatkov, kjer so pojasnjevalne spremenljivke izbrane vnaprej. Taki modeli pa so lahko neprimerni za raziskave z majhnimi vzorci in redkimi dogodki, saj se lahko pojavi preprileganje, pristranskost in nenatančnost v regresijskih koeficientih ter ocenjenih verjetnostih. Z uporabo univariatne regresije so te težave manjše, žal pa rezultati ne upoštevajo drugih spremenljivk, kar predstavlja pomembno težavo, ko so pojasnjevalne spremenljivke med seboj povezane. Za uporabo univariatne regresije v nalogi smo se odločili, ker je ta pristop pogosto uporabljen v praksi in smo želeli pokazati potencialne pomanjkljivosti takega pristopa in razlike v rezultatih univariatne in multiple regresije.

Če povzamemo, smo vpliv motečih spremenljivk pri retrospektivni kohortni študiji poskusili omejiti z uporabo modelov multiple regresije. Najprej smo v model multiple regresije, poleg izida, vključili moteči spremenljivki in posamezno pojasnjevano spremenljivko. Rezultate teh modelov smo lahko primerjali z rezultati univariatne logistične regresije pri študiji s kontrolno skupino. Torej za primerjavo, ko moteči spremenljivki vključimo v model, ali ko ju uporabimo za iskanje ujemkov. Nato nas je zanimalo, ali dobimo primerljive rezultate, ko postavimo zgolj en model multiple regresije, ki vključuje vse pojasnjevalne in moteče spremenljivke.

Rezultati, ki smo jih pri posameznem modelu predstavili, so ocene razmerja obetov pri stopnji tveganja  $\alpha = 5\%$  in s pripadajočim 95% intervalom zaupanja. Razmerje obetov pri številskih spremenljivkah je bilo izračunano glede na interkvartilni razpon (ang. interquartile range, IQR) pojasnjevalne spremenljivke, kar pomeni, da smo med seboj primerjali obe pri prvem in tretjem kvartilu. Za to smo se odločili zaradi lažje interpretabilnosti rezultatov. To velja tudi za študijo s kontrolno skupino. Poleg razmerja obetov nas je zanimala še ocena post-hoc statistične moči študije.



#### 2.5.4 Študija s kontrolno skupino

Za obravnavo podatkov redkih bolezni naj bi bila najbolj priporočljiva študija s kontrolno skupino. Tudi v primeru te študije smo za analizo podatkov uporabili univariatno logistično regresijo in kot rezultate predstavili ocene razmerja obetov in pripadajoče 95 % intervale zaupanja.

Podatke za obravnavo smo izbrali tako, da smo posameznemu primeru, bolniku z meningoencefalomielitisom, izbrali po eno, dve ali tri ujemaajoče kontrole (bolniki z meningitisom ali meningoencefalitisom). Uporabljeno je bilo individualno usklajevanje, pri čemer smo upoštevali naslednje kriterije:

**Kriterij 1:** Isto leto sprejema v bolnišnico.

**Kriterij 2:** Isti spol.

**Kriterij 3:** Ista starost oziroma leto rojstva. Če med potencialnimi kontrolami ni bolnikov z istim letom rojstva, kot ga ima primer, izberemo bolnika z najbližjim letom rojstva. Pri tem naredimo enkrat odklon v pozitivno in drugič v negativno smer.

Za vsako razmerje (imamo razmerja primer : kontrola 1:1, 1:2 in 1:3) smo ocenili 12 modelov univariatne logistične regresije, od tega 6 modelov nepogojne logistične regresije in 6 modelov pogojne logistične regresije. Vsak model ocenjuje povezanost med težo akutne bolezni in posamezno pojasnjevalno spremenljivko. Spremenljivki *starost* in *spol* smo obravnavali kot moteči spremenljivki in ju zato uporabili kot spremenljivki za usklajevanje. To je razlog, da ju nismo vključili v noben model kot pojasnjevalni spremenljivki. Usklajevanje je eden od načinov, kako zmanjšamo vpliv motečih spremenljivk.

Čeprav naj bi vpliv motečih spremenljivk zmanjšali že z usklajevanjem, nas je dodatno zanimalo še, kakšne rezultate bi dobili, če bi na takih podatkih uporabili še multiplo logistično regresijo. Postavili smo 6 modelov, se pravi ločeno za vsako razmerje primer : kontrola ter za vsako razmerje še dodatno ločeno na nepogojno

in pogojno logistično regresijo. V model smo vključili izid v odvisnosti od vseh obravnavanih pojasnjevalnih spremenljivk, razen motečih spremenljivk, ki smo jih uporabili že pri usklajevanju. Pri vsakem modelu smo si pogledali še, kaj se zgodi, če pojasnjevalnima spremenljivkama z največjim deležem manjkajočih podatkov imputiramo povprečne vrednosti, in kaj, če iz modela omenjeni spremenljivki odstanimo. To pomeni, da smo dodatno ocenili še 12 modelov multiple regresije.

Ocenili smo tudi post-hoc statistično moč študije. Ovrednotiti smo želeli, za koliko se moč pri študiji s kontrolno skupino izboljšuje, ko primeru določimo več kontrol. Pogledali smo si statistično moč študije za razmerje 1:1, 1:2 in 1:3. Predvsem pa nas je zanimalo, kakšna je razlika med statistično močjo retrospektivne kohortne študije in študije s kontrolno skupino.

### 3 Rezultati analize podatkov o klopnem meningoencefalitisu

V retrospektivno kohortno študijo smo vključili 420 bolnikov, od tega jih je 19 (4,52 %) imelo meningoencefalomielitis, 132 (31,43 %) jih je imelo meningitis in 269 (64,05 %) meningoencefalitis. Glavne značilnosti so opisane v tabeli 3.1.

<i>Kohorta: n=420</i> <i>M+ME: n=401, MEM: n=19</i>		NA	Frekvenca	Odstotek
<b>Spol (M)</b>	Kohorta		227	54,05 %
	M+ME; MEM		215; 12	53,62 %; 63,16 %
<b>Spremljajoče bolezni (Da)</b>	Kohorta		189	45,00 %
	M+ME; MEM		182; 7	47,13 %; 36,84 %
<b>Dvofazni potek bolezni (Da)</b>	Kohorta	5	238	57,35 %
	M+ME; MEM	4; 1	231; 7	58,19 %; 38,89 %
		NA	Mediana	IQR
<b>Starost</b>	Kohorta		55	43–63
	M+ME; MEM		55; 57	42–63; 50–60,5
<b>Število levkocitov v likvorju</b>	Kohorta	1	81	40–139
	M+ME; MEM	1; 0	80; 97	39,75–138; 42–248,5
<b>Koncentracija proteinov v likvorju</b>	Kohorta	1	0,7	0,55–0,93
	M+ME; MEM	1; 0	0,69; 0,93	0,55–0,91; 0,49–1,22
<b>Količnik albuminov</b>	Kohorta	107	10,11	7,89–13,4
	M+ME; MEM	103; 4	10,11; 9,87	7,91–13,16; 7,85–24,52
<b>Količnik IgG</b>	Kohorta	107	5,12	3,94–6,91
	M+ME; MEM	103; 4	5,06; 7,08	3,93–6,74; 4,37–11,13

Tabela 3.1: Opis pojasnjevalnih spremenljivk, retrospektivna kohortna študija.

V študijo s kontrolno skupino smo vključili 19 primerov in 19, 38 oziroma 57 kontrol. Glavne značilnosti so v tem primeru opisane v tabeli 3.2

<i>MEM: n=19</i> <i>M+ME: n=19, 38, 57</i>		NA	Frekvenca	Odstotek
Spol (M)	MEM		12	63,16 %
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)		12; 24; 36	63,16 %; 63,16 %; 63,16 %
Spremljajoče bolezni (Da)	MEM		7	36,84 %
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)		10; 19; 31	52,63 %; 50 %; 54,38 %
Dvofazni potek bolezni (Da)	MEM	1	7	38,89 %
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)		10; 20; 33	52,63 %; 52,63 %; 57,89 %
		NA	Mediana	IQR
Starost	MEM		57	50–60,5
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)		56; 56; 56	48,5–60,5; 49,25–61,75; 49–61
Število levkocitov v likvorju	MEM		97	42–248,5
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)		67; 64; 75	30–189,5; 38,5–146,5; 40–139
Koncentracija proteinov v likvorju	MEM		0,93	0,49–1,22
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)		0,71; 0,7; 0,7	0,63–1; 0,6–1,03; 0,6–1,03
Količnik albuminov	MEM	4	9,87	7,85–24,52
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)	3; 10; 13	11,41; 11; 11	8,24–14,38; 8,33–13,99; 8,33–13,99
Količnik IgG	MEM	4	7,08	4,37–11,13
	M+ME (1:1, 1:2, 1:3)	3; 10; 13	5,25; 5,09; 5,25	4,03–7; 4,03–6,4; 4,03–6,9

Tabela 3.2: Opis pojasnjevalnih spremenljivk, študija s kontrolno skupino.

Pri študiji s kontrolno skupino velja omeniti še, da smo za vsak primer našli kontrole z istim letom sprejema v bolnišnico in istega spola. Pri letu rojstva nismo dobili popolnega ujemanja. Tako smo, na primer, pri razmerju 1:1 dobili 5 ujemanj, kjer je kontrola eno leto starejša od primera in 4 ujemanja, kjer je kontrola eno leta mlajša od primera. Število parov, kjer je bilo leto rojstva neskladno, je podano v tabeli 3.3.

### 3.1 Izid raziskave

#### Teža akutne bolezni

Kot smo že omenili, smo v namen naše naloge pri analizi podatkov združili meningitis in meningoencefalitis v eno kategorijo ter težo akutne bolezni obrav-

Razlika v letu rojstva	Število parov brez popolnega ujemanja		
	Razmerje 1:1	Razmerje 1:2	Razmerje 1:3
+/- 1 leto	5 (+), 4 (-)	8 (+), 7 (-)	9 (+), 10 (-)
+/- 2 leti	1 (+), 2 (-)	4 (+), 7 (-)	6 (+), 12 (-)
+/- 3 leta		2 (+), 1 (-)	3 (+), 2 (-)
+ 4 leta			1 (+)
+ 6 let			1 (+)
+ 8 let			1 (+)
+/- 11 let			1 (+), 1 (-)

Tabela 3.3: Kriteriji za usklajevanje. Število parov, kjer nismo dobili popolnega ujemanja. (+): število parov, kjer so bile kontrole starejše od primerov, (-): število parov, kjer so bile kontrole mlajše od primerov.

navali kot dihotomno spremenljivko z vrednostima M+ME in MEM, pri čemer je delež redke bolezni (MEM) 4,52 %.

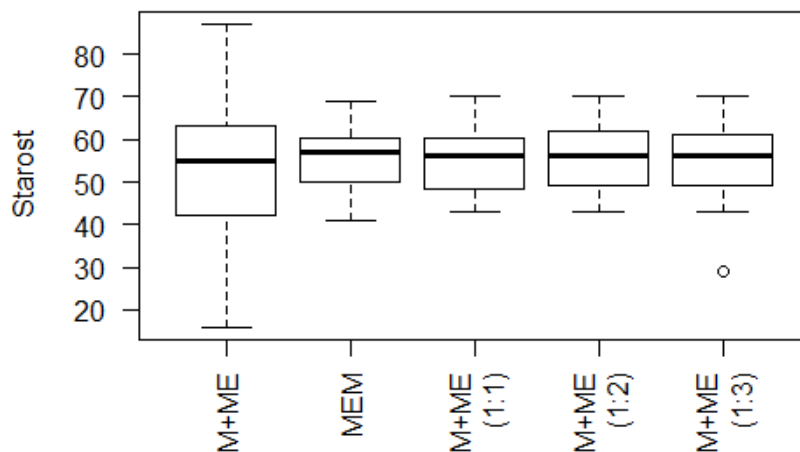
## 3.2 Pojasnjevalne spremenljivke

### Starost

Starost je imela na celotni kohorti razpon od 16 do 87 let. Povprečna starost udeležencev je bila 52 let, mediana pa 55 let (IQR: od 43 do 63 let).

Pri retrospektivni kohortni študiji ni bilo velike razlike v mediani, če med seboj primerjamo bolnike z M+ME ter bolnike z MEM. Je bil pa interkvartilni razpon pri bolnikih z M+ME večji kot pri bolnikih z MEM.

Kot smo pričakovali, je bila mediana pri študiji s kontrolno skupino pri vseh treh kontrolnih skupinah podobna mediani pri skupini s primeri (bolniki z MEM). Tudi interkvartilni razponi so bili pri kontrolnih skupinah podobni kot pri skupini s primeri, kar lahko razberemo iz tabele 3.2 in vidimo na sliki 3.1. Torej nam je z usklajevanjem uspelo doseči, da imajo kontrolne skupine podobno porazdelitev starosti kot skupina s primeri.



Slika 3.1: Grafikon kvartilov: Starost.

## Spol

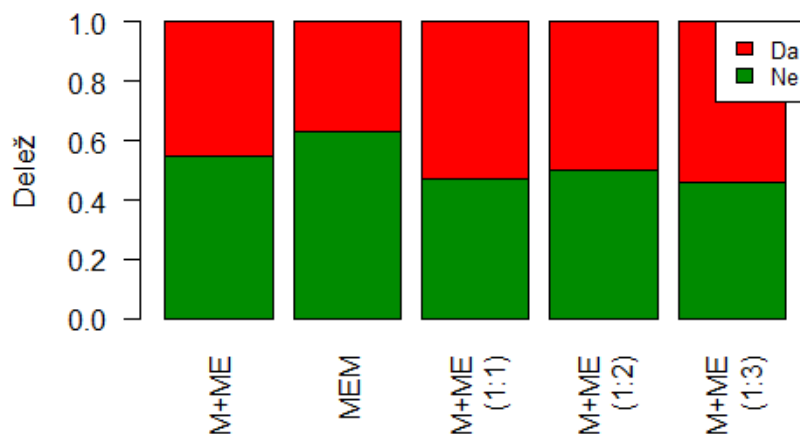
Na celotni kohorti je bil delež moških, obolelih za KME, nekoliko višji od deleža žensk (54,05 %).

Pri retrospektivni kohortni študiji smo v primeru bolnikov z M+ME dobili delež moških 53,62 % in pri bolnikih z MEM višji odstotek, 63,12 %. Enak odstotek moških bolnikov kot v skupini s primeri (MEM) smo dobili v vseh treh kontrolnih skupinah. To je bilo pričakovano, saj je spol spremenljivka, ki smo jo uporabili za iskanje ujemaajočih kontrol.

## Spremljajoče bolezni

Vsi udeleženci so odgovorili na vprašanje, ali imajo spremljajoče bolezni. Pri tem jih je 45 % odgovorilo, da jih ima, in 55 %, da jih nima.

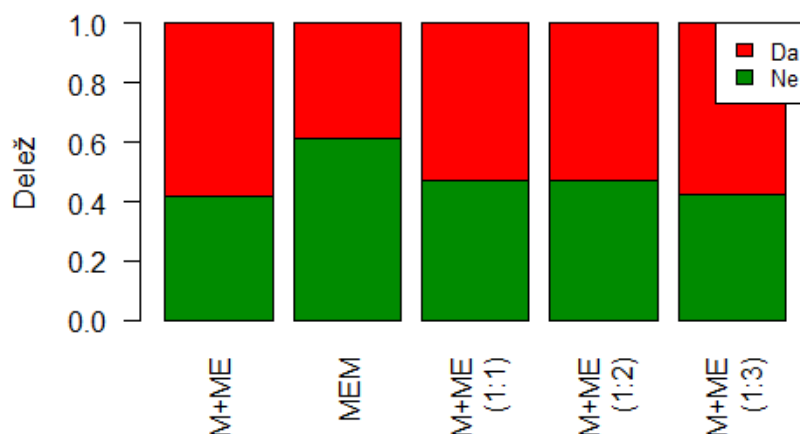
Ko smo za retrospektivno kohortno študijo ločili podatke na bolnike z M+ME in na bolnike z MEM, smo videli, da so imeli bolniki z MEM nižji delež diagnosticiranih spremljajočih bolezni v primerjavi z ostalimi bolniki. Enako vidimo pri študiji s kontrolno skupino (slika 3.2), kjer imajo bolniki z MEM nižji delež pritrilnih odgovorov kot kontrolne skupine.



Slika 3.2: Strukturni stolpci: Spremljajoče bolezni.

### Dvofazni potek bolezni

Na kohorti smo imeli 57,35 % bolnikov z dvofaznim potekom. Za 5 bolnikov nismo imeli podatka, v koliko fazah je potekala bolezen, od tega štiri pri bolnikih z M+ME. V kohortni študiji je bilo med obolelimi z MEM skoraj 20 % manj bolnikov z dvofaznim potekom kot med obolelimi z M+ME.



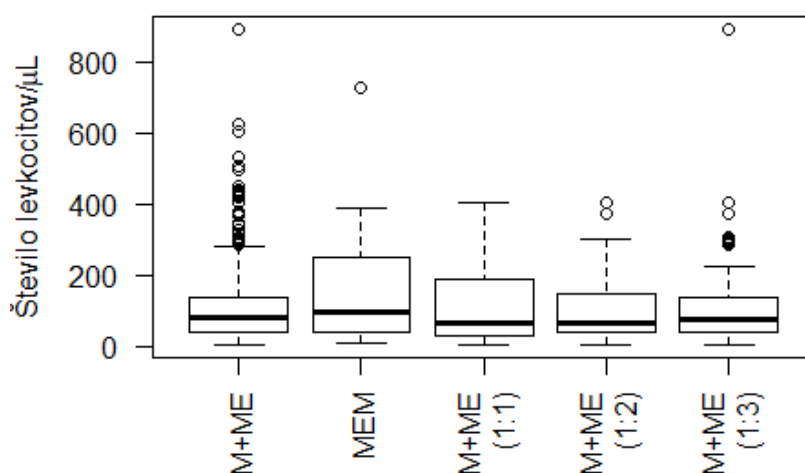
Slika 3.3: Strukturni stolpci: Dvofazni potek bolezni.

V skupini bolnikov z MEM jih je 38,89 % imelo dvofazni potek bolezni. Za enega MEM bolnika nismo imeli podatka o fazah. V kontrolnih skupinah ni bilo

manjkajočih podatkov. Odstotek bolnikov z dvofaznim potekom v kontrolnih skupinah je bil višji kot v skupini s primeri, kar je razvidno tudi iz slike 3.3.

### Število levkocitov v likvorju

Spremenljivka je zavzela vrednosti od 6 do 891/ $\mu\text{L}$  in imela eno manjkajočo vrednost. Vsi bolniki s podatkom so imeli število levkocitov višje od referenčne vrednosti. Pri kohortni študiji so imeli bolniki z MEM višjo mediano in širši interkvartilni razpon kot bolniki z M+ME (glej sliko 3.4).



Slika 3.4: Grafikon kvartilov: Število levkocitov v likvorju.

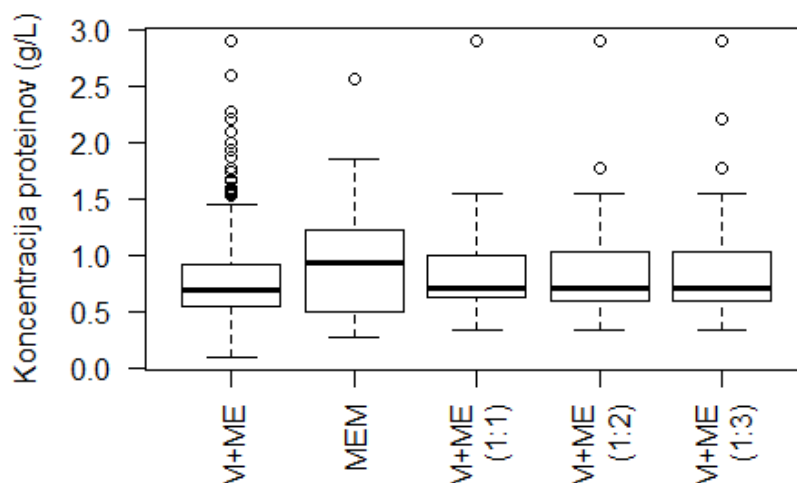
Pri študiji s kontrolno skupino ni bilo manjkajočih vrednosti. Mediana števila levkocitov v likvorju je bila pri bolnikih z MEM 97/ $\mu\text{L}$ , medtem ko je bila pri kontrolnih skupinah mediana nižja (med 64 in 75/ $\mu\text{L}$ ). Skupina s primeri je imela večji interkvartilni razpon v primerjavi z razponom pri kontrolnih skupinah.

### Koncentracija proteinov v likvorju

Spremenljivka je vsebovala eno manjkajočo vrednost. Koncentracija proteinov v likvorju je imela razpon od 0,1 do 2,9 g/L na celotni kohorti. Povprečna



vrednost je bila 0,79 g/L in mediana 0,7 g/L (IQR: od 0,55 do 0,93 g/L). Vsaj tri četrtine bolnikov s KME je imelo koncentracijo višjo od referenčne vrednosti. Pri bolnikih z MEM smo dobili višjo mediano in širši IQR kot pri bolnikih z M+ME.



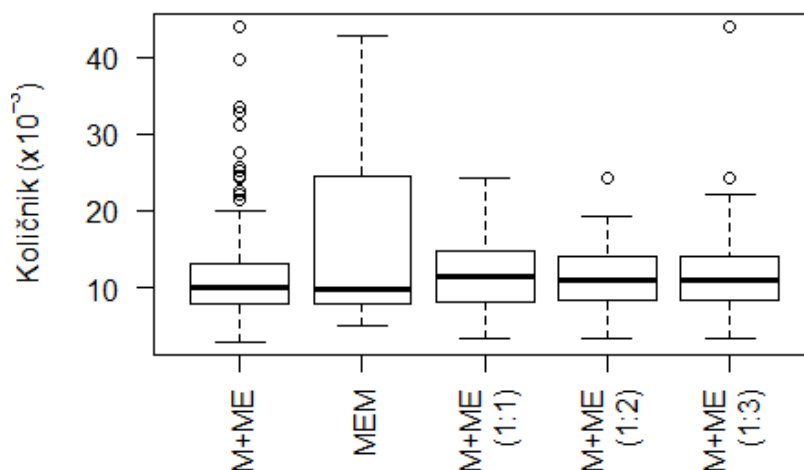
Slika 3.5: Grafikon kvartilov: Koncentracija proteinov v likvorju.

Mediana v kontrolnih skupinah je zavzela nižjo vrednost od mediane pri bolnikih z MEM. IQR je bil pri vseh treh kontrolnih skupinah podoben in kot vidimo na sliki 3.5, je bil le-ta manjši kot v skupini s primeri.

### Količnik albuminov

Spremenljivka *količnik albuminov* je imela razpon od  $3,02 \times 10^{-3}$  do  $43,89 \times 10^{-3}$  in IQR od  $7,89 \times 10^{-3}$  do  $13,40 \times 10^{-3}$ , kar nakazuje, da je imela večina bolnikov, ne glede na njihovo starost, povišan količnik. Da imajo bolniki s KME povišan količnik albuminov, je pričakovano, saj to nakazuje na vnetje.

Spremenljivka je imela 107 manjkajočih vrednosti (25 % bolnikov). Pri kohortni študiji je to pomenilo, da imajo bolniki z M+ME 26 % manjkajočih podatkov in bolniki z MEM 21 % manjkajočih podatkov. Mediani omenjenih skupin sta si bili podobni. Dobili pa smo vidno razliko v interkvartilnem razponu (slika 3.6).



Slika 3.6: Grafikon kvartilov: Količnik albuminov.

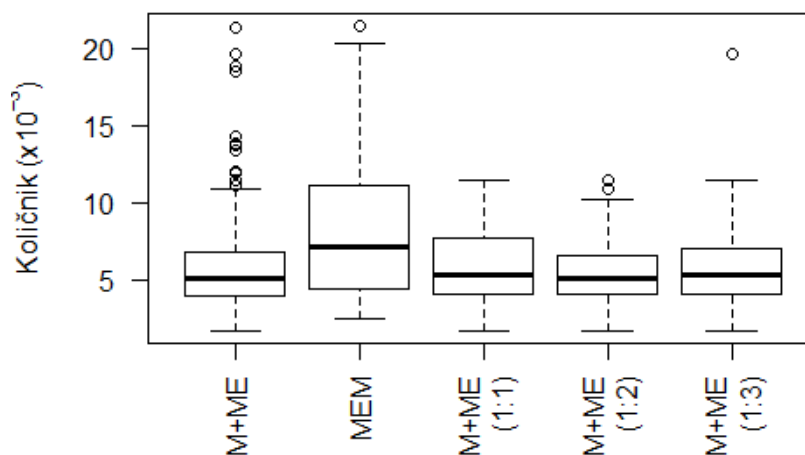
Kontrolne skupine so imele od 16 % do 26 % manjkajočih podatkov. Mediana pri kontrolnih skupinah je bila nekoliko višja kot mediana v skupini s primeri. IQR je bil zopet največji pri skupini s primeri.

### Količnik IgG

Količnik IgG je imel razpon od  $1,71 \times 10^{-3}$  do  $21,41 \times 10^{-3}$ . Povprečna vrednost količnika pri bolnikih je bila  $5,95 \times 10^{-3}$ , mediana  $5,12 \times 10^{-3}$ . Za 107 (25 %) bolnikov nismo imeli podatka o količniku IgG. Glede na vrednosti količnika IgG smo opazili, da je imela večina bolnikov s podatkom za spremenljivko *količnik IgG* vrednost količnika nad referenčno vrednostjo.

Na sliki 3.7 vidimo, da so imeli bolniki z MEM višjo mediano in širši IQR kot bolniki z M+ME. Delež manjkajočih podatkov je bil tako za kohortno študijo kot tudi za študijo s kontrolno skupino enak kot pri količniku albuminov.

Vse kontrolne skupine so imele nižjo mediano kot skupina s primeri. Interkvartilni razpon je bil ožji kot pri skupini s primeri.



Slika 3.7: Grafikon kvartilov: Količnik IgG.

### 3.3 Univariatna logistična regresija

Rezultate univariatne logistične regresije lahko razberemo iz tabel 3.4 in 3.5. Domnevni moteči spremenljivki *starost* in *spol* imata rezultate zgolj za retrospektivno kohortno študijo, saj sta bili pri študiji s kontrolno skupino uporabljeni pri usklajevanju. Poleg rezultatov univariatne logistične regresije, so v tabelah 3.4 in 3.5 podani tudi rezultati retrospektivne kohortne študije s popravkom za moteči spremenljivki.

#### 3.3.1 Razmerje obetov

Rezultati v tabeli 3.4 kažejo, da so imeli starejši bolniki višje obete za razvoj MEM kot mlajši bolniki. Enako velja za moške v primerjavi z ženskami. Rezultata nista bila statistično značilna, zato ne zavrnamo ničelne domneve, da v populaciji ni povezanosti med obliko bolezni in starostjo oziroma spolom.

Primerjava rezultatov retrospektivne kohortne študije brez in s popravkom za starost ter spol kaže znatno razliko v ocenah OR pri spremenljivkah *spremljajoče bolezni* in *število levkocitov v likvorju*. Domnevali smo, da je razlika posledica

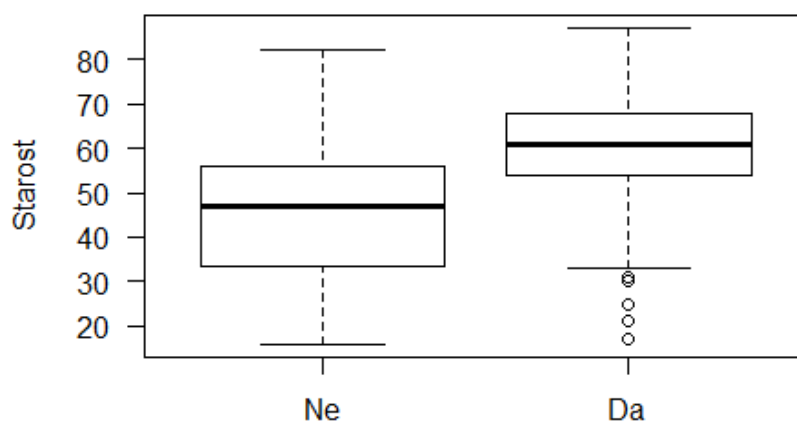
<i>OR (95 % IZ)</i> <i>Vrednost p</i>	<b>Kohorta</b>	<b>Kohorta s popravkom</b>	<b>Kontrola 1:1</b>	<b>Kontrola 1:2</b>	<b>Kontrola 1:3</b>	<b>Kontrola 1:1 (pogojna)</b>	<b>Kontrola 1:2 (pogojna)</b>	<b>Kontrola 1:3 (pogojna)</b>
<b>Spol</b>	1,48(0,57-3,84) 0,42	/	/	/	/	/	/	/
<b>Spremljajoče bolezni</b>	0,70(0,27-1,82) 0,47	0,46(0,16-1,35) 0,16	0,52(0,14-1,92) 0,33	0,58(0,19-1,80) 0,35	0,49(0,17-1,42) 0,19	0,53(0,15-1,92) 0,34	0,59(0,19-1,80) 0,35	0,49(0,17-1,43) 0,19
<b>Dvofazni potek bolezni</b>	0,46(0,17-1,20) 0,11	0,49(0,18-1,30) 0,15	0,57(0,15-2,12) 0,40	0,57(0,18-1,79) 0,34	0,46(0,16-1,37) 0,16	0,58(0,16-2,11) 0,41	0,58(0,19-1,79) 0,34	0,47(0,16-1,37) 0,17
<b>Starost</b>	1,37(0,74-2,55) 0,32	/	/	/	/	/	/	/
<b>Število levkocitov</b>	1,30(0,98-1,73) 0,07	1,39(1,03-1,89) 0,03	1,43(0,58-3,55) 0,44	1,44(0,88-2,33) 0,14	1,21(0,85-1,72) 0,28	1,42(0,58-3,48) 0,44	1,43(0,88-2,30) 0,15	1,21(0,85-1,71) 0,28
<b>Koncentracija proteinov</b>	1,49(1,06-2,07) 0,02	1,50(1,06-2,11) 0,02	1,20(0,63-2,31) 0,58	1,26(0,74-2,16) 0,39	1,29(0,78-2,14) 0,33	1,20(0,63-2,28) 0,59	1,26(0,74-2,14) 0,39	1,29(0,78-2,13) 0,33
<b>Količnik albuminov</b>	1,70(1,25-2,31) <0,01	1,71(1,26-2,33) <0,01	2,12(0,80-5,65) 0,13	2,07(1,01-4,25) 0,05	1,62(0,99-2,66) 0,06	2,07(0,79-5,44) 0,14	2,03(1,00-4,13) 0,05	1,60(0,98-2,62) 0,06
<b>Količnik IgG</b>	1,72(1,26-2,35) < 0,01	1,77(1,29-2,44) < 0,01	2,15(0,82-5,62) 0,12	1,89(1,01-3,52) 0,05	1,65(1,03-2,66) 0,04	2,10(0,81-5,41) 0,13	1,86(1,00-3,44) 0,05	1,64(1,02-2,62) 0,04

Tabela 3.4: Razmerje obolev. Rezultati univariatne logistične regresije in retrospektivne kohortne študije s popravkom za moteči spremenljivki.

	Kohorta popravkom	Kontrola	Kontrola	Kontrola	Kontrola	Kontrola	Kontrola	Kontrola
		1:1	1:2	1:3	1:1 (pogojna)	1:2 (pogojna)	1:3 (pogojna)	
Spol	/	/	/	/	/	/	/	/
Spremljajoče bolezni	0,11	0,16	0,15	0,26	0,16	0,15	0,26	0,26
Dvofazni potek bolezni	0,38	0,13	0,16	0,29	0,13	0,16	0,29	0,29
Starost	/	/	/	/	/	/	/	/
Število levkocitov	0,29	0,20	0,25	0,11	0,19	0,25	0,11	0,11
Koncentracija proteinov	0,41	0,08	0,13	0,16	0,08	0,13	0,16	0,16
Količnik albuminov	0,53	0,55	0,62	0,36	0,53	0,60	0,35	0,35
Količnik IgG	0,58	0,57	0,51	0,39	0,54	0,49	0,38	0,38

Tabela 3.5: Statistična moč (post-hoc).

vpliva motečih spremenljivk. Pri spremljajočih boleznih spol ni imel vpliva, je imela pa viden vpliv starost bolnikov, saj so imeli spremljajoče bolezni predvsem starejši bolniki (slika 3.8). Na spremenljivko *število levkocitov v likvorju* sta vplivali obe moteči spremenljivki, in sicer imajo ženske v povprečju višje število levkocitov kot moški, hkrati pa število levkocitov z leti pada.



Slika 3.8: Grafikon kvartilov: Spremljajoče bolezni in starost.

Ocenili smo, da so imeli bolniki s spremljajočimi boleznimi manjše obete za razvoj MEM v primerjavi z bolniki, ki nimajo spremljajočih bolezni, ter da so imeli večje obete za razvoj MEM bolniki z višjim številom levkocitov v likvorju. Za drugo omenjeno spremenljivko smo v primeru retrospektivne kohortne študije s popravkom dobili statistično značilen rezultat, kar pa se ni ponovilo v primeru študije s kontrolno skupino, kjer je ocena pri razmerju 1:3 nekoliko izstopala, saj je bila nižja od ostalih. Razlog za nižjo oceno OR bi lahko bil, da je bila mediana za M+ME pri tem razmerju višja kot pri ostalih dveh razmerjih in posledično bližje mediani za MEM.

Tudi pri spremenljivki *koncentracija proteinov v likvorju* smo dobili statistično značilen rezultat v primeru retrospektivne kohortne študije, ne pa tudi v primeru študije s kontrolno skupino. Ocene OR so pri tej spremenljivki nakazovale, da so bili obeti za razvoj MEM večji pri višji koncentraciji proteinov.

Retrospektivna kohortna študija je vrnila statistično značilen rezultat tudi pri spremenljivkah *količnik albuminov* in *količnik IgG*, kjer smo mejno statistično značilne rezultate dobili tudi pri razmerju 1:2 in 1:3 pri študiji s kontrolno skupino. Vendar vemo, da je bila analiza narejena pri 25 % manjkajočih podatkov na kohorti oziroma pri 18–25 % manjkajočih podatkov pri študiji s kontrolno skupino. Domnevamo, da je delež manjkajočih podatkov nekoliko vplival na rezultate, saj so bila razmerja obetov med seboj opazno različna, vsi rezultati pa so kazali, da so bili obeti za razvoj MEM večji pri višjemu količniku.

Iz tabele 3.4 lahko med drugim razberemo tudi to, da so ocene razmerja obetov podobne pri nepogojni in pogojni logistični regresiji. Pri spremenljivkah *spremljajoče bolezni* in *dvofazni potek bolezni* pa opazimo celo veliko podobnost OR pri retrospektivni kohortni študiji s popravkom in pri razmerju 1:3 študije s kontrolno skupino.

### 3.3.2 Natančnost ocene

Kot je bilo pričakovano, smo najslabšo natančnost ocene razmerja obetov dobili pri razmerju 1:1 študije s kontrolno skupino. Natančnost ocene se je z večanjem števila kontrol izboljševala. Primerjava 95 % intervalov zaupanja je pokazala, da pri nepogojni in pogojni logistični regresiji dobimo podobno natančnost ocen razmerja obetov. Mogoče je ta le za odtenek boljša pri pogojni logistični regresiji.

Najboljšo natančnost smo dobili pri retrospektivni kohortni študiji, kjer smo se osredotočili na rezultate s popravkom za starost in spol. Pri določenih spremenljivkah (*spremljajoče bolezni*, *dvofazni potek bolezni*, *število levkocitov v likvorju*) je bila natančnost pri razmerju 1:3 podobna natančnosti pri kohortni študiji.

### 3.3.3 Post-hoc statistična moč

Moč ni nikjer preseгла 70 % oziroma pri statistično neznačilnih spremenljivkah 50 %, kar se sklada z zapisanim v poglavju Statistična moč in velikost testa. Moč je bila pri retrospektivni kohortni študiji s popravkom večja kot pri študiji s kontrolno skupino, kar ni nič presenetljivega, saj je moč praviloma višja pri večjih vzorcih. Izjema je bila spremenljivka *spremeljajoče bolezni*, kjer lahko govorimo o posledici velikega vpliva motečih spremenljivk.

Kar še velja omeniti, je, da je bila moč pri pogojni logistični regresiji nekoliko manjša kot pri nepogojni logistični regresiji.

## 3.4 Multipla logistična regresija

Najprej smo ocenili model multiple logistične regresije na podlagi podatkov celotne kohorte, ki je vseboval izid v odvisnosti od motečih in pojasnjevalnih spremenljivk. Analiza rezultatov je pokazala, da zaradi manjkajočih vrednosti, 26 % udeležencev raziskave v analizo ni bilo vključenih. Iz predhodnih analiz smo vedeli, da imata največ manjkajočih vrednosti spremenljivki *količnik albuminov* in *količnik IgG*. Odločili smo se oceniti dva dodatna modela, in sicer model z imputacijo povprečnih vrednosti omenjenih spremenljivk ter model brez omenjenih spremenljivk. S tem smo zmanjšali število izključenih bolnikov na manj kot 2 %. V nalogo smo vključili zgolj rezultate modela z imputacijo manjkajočih vrednosti (tabela 3.6), rezultati ostalih modelov so predstavljeni v dodatku.

Podobno smo naredili za podatke študije s kontrolno skupino. Posamezno smo ocenili modele za vsako razmerje primer : kontrola ter še za nepogojno in pogojno logistično regresijo, kjer smo v modele vključili izid v odvisnosti od pojasnjevalnih spremenljivk. Rezultati modela z imputacijo povprečnih vrednosti so prikazani v tabeli 3.7, ostale rezultate najdemo v dodatku.

Spremenljivke, pri katerih smo pri multipli logistični regresiji dobili ocene OR



<i>n=414</i>	<b>OR</b>	<b>95 % IZ</b>	<b>Vrednost p</b>
<b>(Konstanta)</b>	0,00	0,00–0,05	0,00
<b>Starost</b>	2,25	0,98–5,18	0,06
<b>Spol</b>	1,53	0,55–4,24	0,41
<b>Spremljajoče bolezni</b>	0,35	0,11–1,10	0,07
<b>Dvofazni potek bolezni</b>	0,58	0,21–1,62	0,30
<b>Število levkocitov</b>	1,19	0,82–1,74	0,36
<b>Koncentracija proteinov</b>	0,90	0,46–1,79	0,77
<b>Količnik albuminov</b>	0,92	0,46–1,83	0,80
<b>Količnik IgG</b>	1,49	0,76–2,92	0,24

Tabela 3.6: Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, retrospektivna kohortna študija. Model z imputacijo povprečnih vrednosti pri spremenljivkah *količnik albuminov* in *količnik IgG*.

primerljive tistim iz tabele univariatne logistične regresije, so: *spol*, *spremljajoče bolezni*, *dvofazni potek bolezni* in *število levkocitov v likvorju*. Pri številu levkocitov bi omenili, da je imela spremenljivka v primeru univariatne logistične regresije (kohortna študija) statistično značilen rezultat, v modelih multiple regresije so ocene OR nekoliko nižje in statistično neznačilne.

Starost je imela v modelu multiple regresije večji učinek kot v modelu univariatne regresije, še vedno pa je veljalo, da so obeti za razvoj MEM večji pri višji starosti, ko smo primerjali bolnike, ki so imeli pri vseh ostalih pojasnjevalnih spremenljivkah iste vrednosti. Spremenljivka je bila v modelu multiple regresije mejno statistično značilna, medtem ko pri nobeni drugi spremenljivki v modelih multiple regresije nismo dobili statistično značilnega rezultata.

Količnik IgG in količnik albuminov sta imela v tabeli rezultatov univariatne logistične regresije (tabela 3.4) nekoliko nestabilne rezultate in statistično značilen rezultat pri retrospektivni kohortni študiji. Za količnik IgG smo pri multipli logistični regresiji (tabeli 3.6 in 3.7) dobili primerljive ocene OR med retrospektivno kohortno študijo in študijo s kontrolno skupino. Drugače je bilo pri količniku albuminov, kjer smo pri multipli regresiji pri kohortni študiji dobili  $OR < 1$  in

<i>nepogojna; pogojna regresija</i> <i>1:1: n=37, 1:2: n=56, 1:3: n=75</i>	<b>OR</b>	<b>95 % IZ</b>	<b>Vrednost p</b>
<b>Spremljajoče bolezni 1:1</b>	0,39; 0,40	0,09–1,71; 0,09–1,72	0,21; 0,22
<b>Spremljajoče bolezni 1:2</b>	0,40; 0,41	0,11–1,48; 0,11–1,49	0,17; 0,17
<b>Spremljajoče bolezni 1:3</b>	0,32; 0,33	0,09–1,13; 0,09–1,14	0,08; 0,08
<b>Dvofazni potek bolezni 1:1</b>	0,62; 0,62	0,15–2,54; 0,15–2,52	0,50; 0,51
<b>Dvofazni potek bolezni 1:2</b>	0,53; 0,54	0,15–1,93; 0,15–1,93	0,34; 0,34
<b>Dvofazni potek bolezni 1:3</b>	0,45; 0,46	0,13–1,52; 0,14–1,52	0,20; 0,20
<b>Število levkocitov 1:1</b>	1,04; 1,04	0,27–4,00; 0,28–3,92	0,95; 0,95
<b>Število levkocitov 1:2</b>	1,21; 1,21	0,61–2,39; 0,62–2,37	0,58; 0,58
<b>Število levkocitov 1:3</b>	1,05; 1,05	0,67–1,66; 0,67–1,65	0,82; 0,82
<b>Koncentracija proteinov 1:1</b>	0,59; 0,60	0,17–2,10; 0,17–2,10	0,42; 0,43
<b>Koncentracija proteinov 1:2</b>	0,53; 0,53	0,16–1,72; 0,16–1,72	0,29; 0,29
<b>Koncentracija proteinov 1:3</b>	0,56; 0,56	0,17–1,79; 0,18–1,79	0,33; 0,33
<b>Količnik albuminov 1:1</b>	1,32; 1,31	0,09–18,51; 0,10–17,72	0,84; 0,84
<b>Količnik albuminov 1:2</b>	1,23; 1,22	0,23–6,54; 0,23–6,41	0,81; 0,81
<b>Količnik albuminov 1:3</b>	1,11; 1,11	0,34–3,66; 0,34–3,62	0,86; 0,86
<b>Količnik IgG 1:1</b>	1,51; 1,49	0,28–8,24; 0,28–7,96	0,64; 0,64
<b>Količnik IgG 1:2</b>	1,50; 1,49	0,44–5,08; 0,45–4,98	0,51; 0,52
<b>Količnik IgG 1:3</b>	1,42; 1,41	0,44–4,56; 0,44–4,50	0,55; 0,56

Tabela 3.7: Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, študija s kontrolno skupino. Model z imputacijo povprečnih vrednosti pri spremenljivkah *količnik albuminov* in *količnik IgG*.

pri študiji s kontrolno skupino OR, ki z večanjem števila kontrol pada proti 1. Podobno se zgodi s koncentracijo proteinov, kjer dobimo pri univariatni logistični regresiji statistično značilen rezultat in  $OR > 1$ , v modelih multiple regresije je bila ocena  $OR < 1$ .

Izkazalo se je, da smo tudi v primeru multiple analize dobili primerljive rezultate s pogojno in nepogojno logistično regresijo.

## 4 Simulacije

S simulacijami smo želeli podkrepiti rezultate dejanskih podatkov in še bolj natančno raziskati razlike med retrospektivno kohortno študijo in študijo s kontrolno skupino. V ta namem smo si zamislili, da bi generirali kohorto podobne velikosti, kot je kohorta pri dejanskih podatkih, in s podobnim deležem dogodkov. Zato smo generirali kohorto velikosti  $n = 400$  z deležem dogodkov 5 %. Poleg tega nas je zanimalo, kakšen bi bil vpliv na rezultate, če bi imeli manjšo ( $n = 300$ ) ali večjo kohorto ( $n = 500$ ).

### 4.1 Metode

Postavili smo model, v katerem je bil dihotomni izid  $y$  odvisen od pojasnjevalne spremenljivke  $x$  in moteče spremenljivke  $z$ . Pri generiranju vektorjev  $X = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}$  in  $Z = \{z_1, z_2, \dots, z_n\}$  smo uporabili multivariatno normalno porazdelitev s povprečnima vrednostima  $\mu_x = \mu_z = 0$  in standardnima odklonoma  $\sigma_x = \sigma_z = 1$ . Pri tem smo upoštevali različno stopnjo odvisnosti med pojasnjevalno in motečo spremenljivko, določeno s stopnjo korelacije med njima, ki je zavzemala vrednosti  $\rho_{xz} = 0, 0,3, 0,5$  ali  $0,8$ .

Logistični model, ki smo ga uporabili pri simulacijah, zapišemo kot

$$\text{logit}(\pi) = \beta_0 + \beta_x x + \beta_z z, \quad (4.1)$$

kjer je bil koeficient  $\beta_0$  izbran tako, da smo pri  $B$  ponovitvah dobili želeni

delež dogodkov 5 %. Regresijska koeficienta  $\beta_x$  in  $\beta_z$  sta zavzemala vrednosti 0, 0,5 ali 1, s čimer smo določili stopnjo odvisnosti izida od spremenljivk  $x$  in  $z$ . V primeru, da je bila vrednost regresijskega koeficienta  $\beta_x = 0$ , je to pomenilo, da sta izid in pojasnjevalna spremenljivka neodvisna. Za vrednosti, različne od 0, je bil izid odvisen od pojasnjevalne spremenljivke  $x$ . Podobno velja za regresijski koeficient  $\beta_z$  in motečo spremenljivko  $z$ .

Vrednost izida  $y$  (primer ali kontrola) smo določili glede na verjetnost dogodka, ki smo ga izračunali kot

$$P(Y = 1|x, z) = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_x x + \beta_z z)}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_x x + \beta_z z)}, \quad (4.2)$$

kjer vektor  $Y$  predstavlja vrednost primera ali kontrole ( $y = 1$  je primer in  $y = 0$  kontrola). Pri tem smo, glede na normalno porazdelitev, generirali vrednosti 0 in 1 ter jih primerjali z verjetnostjo, ki smo jo dobili z enačbo (4.2).

Pri analizi dejanskih podatkov smo ujemke za študijo s kontrolno skupino iskali ročno. Zaradi velikega števila podatkov to pri simulacijah ni bilo mogoče. Uporabili smo funkcijo `matchit` iz knjižnice `MatchIt` [35]. Določiti smo morali vrsto razdalje oziroma modela, kar je v našem primeru logit model. To nam je omogočilo, da je funkcija za primere, kjer nismo našli popolnih ujemkov, poiskala najbolj primerne nepopolne ujemke. Definirali smo tudi število kontrol, ki naj jih funkcija določi posameznemu primeru, torej 1, 2 ali 3 kontrole. Vsaka kontrola je bila izbrana zgolj enkrat.

Testirali smo ničelno hipotezo  $H_0 : \beta_x = 0$ . Simulacije smo razdelili na 7 sklopov. V prvih treh sklopih ni bilo povezanosti med pojasnjevalno spremenljivko  $x$  in izidom  $y$  ( $H_0$  drži). V ostalih štirih sklopih sta bila  $x$  in  $y$  povezana ( $H_0$  ne drži). Število ponovitev v prvih treh sklopih je bilo  $B = 10.000$  in v preostalih sklopih  $B = 1.000$ . V nadaljevanju so opisane nastavitve posameznega sklopa.

1. Izid, pojasnjevalna in moteča spremenljivka so neodvisni med seboj ( $\beta_x = 0$ ,  $\beta_z = 0$ ,  $\rho_{xz} = 0$ ).

2. Pojasnjevalna in moteča spremenljivka sta nepovezani, izid je odvisen od moteče spremenljivke, ne pa tudi od pojasnjevalne spremenljivke ( $\beta_x = 0$ ,  $\beta_z = 0,5$  ali  $1$ ,  $\rho_{xz} = 0$ ).
3. Pojasnjevalna in moteča spremenljivka sta povezani, izid je odvisen od moteče spremenljivke, ne pa tudi od pojasnjevalne spremenljivke ( $\beta_x = 0$ ,  $\beta_z = 0,5$  ali  $1$ ,  $\rho_{xz} = 0,3$  ali  $0,5$  ali  $0,8$ ).
4. Pojasnjevalna in moteča spremenljivka sta nepovezani, izid je odvisen od pojasnjevalne spremenljivke ne pa tudi od moteče spremenljivke ( $\beta_x = 0,5$  ali  $1$ ,  $\beta_z = 0$ ,  $\rho_{xz} = 0$ ).
5. Pojasnjevalna in moteča spremenljivka sta nepovezani, izid je odvisen od pojasnjevalne in moteče spremenljivke ( $\beta_x = 0,5$  ali  $1$ ,  $\beta_z = 0,5$  ali  $1$ ,  $\rho_{xz} = 0$ ).
6. Pojasnjevalna in moteča spremenljivka sta povezani, izid je odvisen od pojasnjevalne spremenljivke, ne pa tudi od moteče spremenljivke ( $\beta_x = 0,5$  ali  $1$ ,  $\beta_z = 0$ ,  $\rho_{xz} = 0,3$  ali  $0,5$  ali  $0,8$ ).
7. Pojasnjevalna in moteča spremenljivka sta povezani, izid je odvisen od pojasnjevalne in moteče spremenljivke ( $\beta_x = 0,5$  ali  $1$ ,  $\beta_z = 0,5$  ali  $1$ ,  $\rho_{xz} = 0,3$  ali  $0,5$  ali  $0,8$ ).

## 4.2 Rezultati

Rezultati simulacij so predstavljeni v tabelah 4.1, 4.2, 4.3.

Rezultati, ki so nas zanimali, so bili:

- pristranskost regresijskega koeficienta  $\beta_x$  (Prist.),
- variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta  $\hat{\beta}_x$  (SD),
- odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja  $\alpha = 0,05$  (p).

Pristranskost regresijskega koeficienta je povprečna vrednost razlike med ocenjenim in dejanskim regresijskim koeficientom  $\hat{\beta}_x - \beta_x$ . Variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta  $\hat{\beta}_x$  smo določili s standardnim odklonom  $SD(\hat{\beta}_x)$ . Delež ponovitev, kjer je bila dobljena vrednost  $p$  manjša od stopnje tveganja  $\alpha = 0,05$ , nam v primeru simulacij pod ničelno hipotezo poda ocenjeno napako 1. vrste, pri čemer smo kot zadovoljiv rezultat upoštevali vrednosti med 0,0457 in 0,0543 (95 % interval zaupanja za  $\alpha = 5\%$ ) [36]. V primeru simulacij pod alternativno hipotezo nam je ta delež podal statistično moč testa. Rezultat je v tabelah, stolpec  $p$ , poročan kot odstotek. Uporabili smo Waldov statistični test.

Pri določenih ponovitvah simulacij ocenjevalni algoritem ni dosegel konvergence (funkcija `glm` v programskem jeziku R izpiše napako: `ang. algorithm did not converge`), ali se je pojavila ločenost (funkcija `glm` v programskem jeziku R izpiše napako: `ang. fitted probabilities numerically 0 or 1 occurred`). Za popravek vrednosti pri ponovitvah simulacij z napako smo uporabili Firthov popravek (funkcija `logistf`). Popravka žal ne moremo uporabiti v primeru pogojne logistične regresije. Ker ponovitev z napakami ni bilo veliko, smo se odločili, da v primeru napake pri pogojni logistični regresiji ponovitev izključimo iz analize. Imeli smo nekaj ponovitev, kjer je program javil napako pri nepogojni logistični regresiji, ne pa tudi pri pogojni. Glede na rezultate, ki so bili podobni kot pri nepogojni logistični regresiji pred uporabo popravka, smo se odločili, da tudi v takih primerih pri pogojni logistični regresiji ponovitev odstranimo iz analize.

V tabelah z rezultati smo z rdečo barvo označili vrednosti, kjer smo pri vsaj eni ponovitvi dobili eno od zgoraj opisanih napak (ocenjevalni algoritem ni dosegel konvergence ali pa se je pojavila ločenost). Napake so bile pravzaprav redke, saj pri nobeni od označenih vrednosti nismo dobili napake v več kot dveh ponovitvah.

## Pristranskost

Pri simulacijah pod ničelno hipotezo ni pristranskosti v sklopih, kjer izid in odvisem od pojasnjevalne spremenljivke in pojasnjevalna spremenljivka ni povezana z motečo spremenljivko (sklopa 1 in 2). Vidimo pa pristranskost pri kohortni

	Kohorta	Kohorta		Kohorta s popravkom		Kontrola 1:1		Kontrola 1:2		Kontrola 1:3		Kontrola 1:1 (pogojna)		Kontrola 1:2 (pogojna)		Kontrola 1:3 (pogojna)									
		Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P						
1.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0$	0,00	0,28	4,5	0,00	0,28	4,6	0,00	0,47	3,4	0,00	0,39	4,1	0,00	0,35	4,3	-0,003	0,45	3,0	0,00	0,37	3,8	0,00	0,34	4,1
		0,00	0,28	4,9	0,00	0,29	4,9	0,00	0,48	3,4	0,00	0,39	4,1	0,00	0,35	4,5	0,00	0,45	3,0	0,00	0,38	3,8	0,00	0,34	4,3
		0,00	0,28	4,7	0,00	0,29	4,7	0,00	0,48	3,2	0,00	0,38	4,0	0,00	0,35	4,1	0,00	0,43	2,9	0,00	0,37	3,8	0,00	0,34	4,0
2.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0$	0,15	0,28	8,5	0,00	0,30	4,8	0,01	0,44	2,5	0,01	0,36	3,2	0,01	0,33	3,6	0,01	0,42	2,3	0,01	0,35	3,0	0,01	0,32	3,4
		0,25	0,28	15,1	0,00	0,33	5,0	0,01	0,41	1,6	0,01	0,34	2,1	0,01	0,31	2,3	0,01	0,39	1,4	0,01	0,33	2,0	0,01	0,30	2,2
		0,41	0,29	31,8	0,00	0,48	5,0	0,01	0,32	0,1	0,01	0,26	0,3	0,01	0,24	0,3	0,01	0,30	0,1	0,01	0,25	0,3	0,02	0,23	0,3
3.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0$	0,29	0,28	17,9	0,00	0,31	4,9	0,01	0,46	2,6	0,01	0,36	3,2	0,02	0,33	3,6	0,01	0,44	2,4	0,01	0,35	3,0	0,02	0,33	3,4
		0,49	0,29	41,5	0,00	0,34	4,6	0,01	0,42	1,6	0,02	0,34	2,1	0,04	0,32	2,7	0,01	0,40	1,4	0,02	0,33	2,0	0,04	0,31	2,5
		0,80	0,30	80,6	0,00	0,49	5,1	0,02	0,32	0,2	0,04	0,27	0,3	0,07	0,26	0,6	0,02	0,31	0,1	0,04	0,26	0,3	0,06	0,26	0,5
4.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,00	0,29	43,8	0,01	0,29	43,9	0,06	0,53	19,7	0,03	0,38	28,7	0,03	0,36	34,3	0,04	0,49	18,5	0,04	0,37	28,1	0,02	0,35	33,5
		0,00	0,32	92,5	0,01	0,33	92,4	0,14	0,72	61,6	0,07	0,49	75,5	0,06	0,45	81,9	0,09	0,66	59,6	0,04	0,47	74,9	0,04	0,44	81,4
		-0,01	0,29	43,0	0,00	0,30	42,7	0,06	0,48	18,5	0,03	0,38	29,7	0,03	0,36	33,9	0,04	0,46	17,1	0,02	0,37	28,8	0,02	0,35	33,2
5.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	-0,03	0,29	40,1	0,01	0,32	41,8	0,08	0,51	19,4	0,04	0,40	28,3	0,03	0,38	32,1	0,05	0,49	18,8	0,02	0,39	27,2	0,02	0,36	31,4
		-0,01	0,30	92,2	0,02	0,32	91,9	0,16	0,66	62,2	0,09	0,51	78,8	0,07	0,44	82,8	0,10	0,59	60,7	0,06	0,49	77,8	0,05	0,43	82,5
		-0,06	0,30	90,9	0,03	0,37	91,6	0,16	0,68	61,5	0,08	0,48	77,2	0,06	0,42	82,6	0,10	0,63	58,9	0,05	0,46	76,4	0,03	0,40	82,0
6.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,00	0,29	44,2	0,00	0,31	40,5	0,03	0,53	15,5	-0,01	0,39	23,1	-0,03	0,34	26,4	0,01	0,49	14,5	-0,02	0,38	22,3	-0,04	0,33	25,9
		0,00	0,29	44,5	0,00	0,34	35,2	-0,06	0,50	10,2	-0,08	0,37	13,8	-0,08	0,32	18,0	-0,08	0,48	9,4	-0,09	0,35	13,1	-0,09	0,31	16,8
		0,00	0,29	43,6	0,00	0,49	19,1	-0,28	0,30	0,7	-0,28	0,26	1,8	-0,28	0,25	1,7	-0,29	0,29	0,7	-0,28	0,26	1,6	-0,28	0,24	1,7
7.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,01	0,33	91,5	0,02	0,34	89,8	0,11	0,77	57,5	0,05	0,56	72,7	0,01	0,46	78,0	0,06	0,69	55,7	0,02	0,53	71,8	-0,01	0,44	77,6
		0,01	0,33	92,7	0,02	0,38	84,6	-0,11	0,54	40,8	-0,13	0,45	58,3	-0,15	0,39	66,2	-0,15	0,50	38,7	-0,16	0,43	56,2	-0,17	0,38	65,4
		0,02	0,32	93,1	0,03	0,51	56,7	-0,54	0,36	4,1	-0,53	0,31	11,5	-0,52	0,29	16,6	-0,56	0,35	3,4	-0,45	0,30	10,7	-0,53	0,28	15,7
7.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,14	0,28	62,6	0,00	0,30	37,3	0,04	0,52	16,2	0,00	0,40	23,5	-0,01	0,35	27,5	0,01	0,48	15,0	-0,01	0,39	22,6	-0,02	0,34	27,0
		0,24	0,29	74,4	0,00	0,34	33,4	-0,06	0,46	10,2	-0,06	0,38	15,7	-0,06	0,33	20,6	-0,07	0,44	9,4	-0,07	0,37	14,7	-0,07	0,32	20,0
		0,41	0,30	87,5	0,01	0,50	18,5	-0,26	0,34	1,0	-0,25	0,29	2,1	-0,23	0,27	3,8	-0,27	0,33	1,0	-0,26	0,28	2,1	-0,24	0,27	3,5
7.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,16	0,33	96,9	0,04	0,35	89,1	0,15	0,89	59,0	0,09	0,58	74,3	0,06	0,49	80,3	0,10	0,78	57,4	0,06	0,55	72,8	0,03	0,47	79,9
		0,26	0,34	97,8	0,04	0,38	84,3	-0,06	0,52	43,9	-0,08	0,44	61,1	-0,08	0,40	69,4	-0,10	0,50	41,1	-0,10	0,43	60,6	-0,10	0,39	68,5
		0,43	0,37	99,1	0,04	0,54	54,9	-0,45	0,40	7,2	-0,42	0,35	18,9	-0,37	0,35	28,7	-0,47	0,38	6,4	-0,43	0,34	17,6	-0,38	0,35	27,7
7.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,26	0,30	76,6	0,01	0,32	38,4	0,06	0,52	17,6	0,03	0,40	25,7	0,03	0,37	31,5	0,04	0,49	16,0	0,02	0,39	25,0	0,02	0,36	31,0
		0,46	0,31	89,8	0,02	0,36	31,8	-0,02	0,52	11,0	-0,01	0,39	19,2	0,00	0,36	24,4	-0,04	0,49	9,7	-0,03	0,38	18,5	-0,01	0,35	24,2
		0,79	0,34	98,1	0,01	0,52	17,2	-0,19	0,38	1,8	-0,15	0,33	6,4	-0,09	0,33	12,1	-0,21	0,37	1,6	-0,16	0,32	6,1	-0,10	0,32	11,6
7.	$\rho_{xz} = 0, \beta_2 = 0, \beta_x = 0,5$	0,21	0,34	96,9	0,03	0,37	85,8	0,13	0,65	56,2	0,07	0,49	73,9	0,05	0,46	79,4	0,08	0,61	54,4	0,04	0,47	73,3	0,03	0,44	78,7
		0,42	0,36	99,4	0,03	0,41	79,2	0,00	0,73	44,1	-0,02	0,50	64,2	-0,01	0,43	72,4	-0,05	0,63	42,1	-0,04	0,48	62,9	-0,03	0,42	71,6
		0,78	0,40	99,9	0,02	0,57	46,2	-0,34	0,47	13,0	-0,25	0,43	32,6	-0,13	0,44	49,0	-0,37	0,45	11,8	-0,26	0,41	31,1	-0,15	0,43	48,1

Tabela 4.1: Simulacije, velikost kohorte  $n = 300$ . Rezultati za pristranskost regresijskega koeficienta  $\beta_x$ , variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta  $\hat{\beta}_x$  in odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja  $\alpha = 0,05$ .

	Kohorta: $n=400$			Kohorta s popravkom			Kontrola 1:1			Kontrola 1:2			Kontrola 1:3			Kontrola 1:1 (pogojna)			Kontrola 1:2 (pogojna)			Kontrola 1:3 (pogojna)						
	Kontrola 1:1: $n=40$	Kontrola 1:2: $n=60$	Kontrola 1:3: $n=80$	Prist.	SD	p	Prist.	SD	p	Prist.	SD	p	Prist.	SD	p	Prist.	SD	p	Prist.	SD	p	Prist.	SD	p				
1.	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 0, \beta_x = 0$	0,00	0,24	5,0	0,00	0,24	5,1	0,00	0,24	5,1	0,00	0,38	4,0	0,00	0,31	4,7	0,00	0,29	4,3	0,00	0,37	3,6	0,00	0,30	4,6	0,00	0,28	4,2
	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 0,5, \beta_x = 0$	0,00	0,24	5,3	0,00	0,24	5,3	-0,01	0,38	3,8	0,00	0,38	3,8	0,00	0,31	4,3	0,00	0,29	4,5	-0,01	0,37	3,5	0,00	0,31	4,1	0,00	0,28	4,4
2.	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 1, \beta_x = 0$	0,00	0,24	5,1	0,00	0,25	5,1	-0,01	0,38	4,0	0,00	0,38	4,0	0,00	0,31	4,4	0,00	0,29	4,8	-0,01	0,37	3,7	0,00	0,31	4,2	0,00	0,29	4,6
	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_z = 0,5, \beta_x = 0$	0,15	0,24	9,5	0,00	0,25	4,9	0,00	0,36	3,2	0,00	0,30	3,2	0,00	0,30	3,4	0,00	0,28	3,4	0,00	0,35	2,9	0,00	0,30	3,2	0,00	0,27	3,3
3.	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_z = 0,5, \beta_x = 0$	0,25	0,24	18,5	0,00	0,28	4,6	0,00	0,34	1,8	0,00	0,27	2,1	0,01	0,25	2,2	0,00	0,33	1,6	0,00	0,33	1,6	0,00	0,27	2,0	0,01	0,25	2,1
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_z = 0,5, \beta_x = 0$	0,40	0,24	39,8	0,00	0,40	4,9	0,01	0,24	0,2	0,01	0,20	0,2	0,01	0,19	0,2	0,01	0,23	0,2	0,01	0,23	0,2	0,01	0,20	0,2	0,01	0,18	0,2
4.	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_z = 1, \beta_x = 0$	0,29	0,24	22,8	0,00	0,26	4,8	0,00	0,36	3,1	0,01	0,30	3,5	0,02	0,28	3,7	0,00	0,28	3,7	0,00	0,35	2,9	0,01	0,29	3,3	0,01	0,28	3,5
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_z = 1, \beta_x = 0$	0,48	0,24	52,7	0,00	0,29	4,9	0,01	0,35	2,0	0,02	0,28	2,3	0,03	0,26	2,8	0,01	0,26	2,8	0,01	0,33	1,9	0,02	0,27	2,1	0,03	0,26	2,7
5.	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_z = 1, \beta_x = 0$	0,79	0,26	89,7	0,00	0,42	4,8	0,02	0,25	0,2	0,03	0,22	0,3	0,05	0,21	0,8	0,02	0,21	0,8	0,02	0,25	0,2	0,03	0,21	0,3	0,05	0,21	0,8
	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 0, \beta_x = 0,5$	-0,01	0,24	54,8	-0,01	0,25	55,4	0,03	0,40	27,9	0,02	0,33	36,8	0,01	0,31	40,5	0,01	0,39	26,5	0,01	0,39	26,5	0,01	0,33	36,1	0,00	0,31	40,2
6.	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 0, \beta_x = 1$	0,00	0,28	97,8	0,01	0,28	97,7	0,10	0,53	77,2	0,07	0,42	89,5	0,04	0,37	92,8	0,07	0,51	76,5	0,05	0,41	89,1	0,03	0,37	92,5	0,01	0,34	88,6
	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 0,5, \beta_x = 0,5$	-0,04	0,25	52,9	0,00	0,26	53,9	0,04	0,44	28,8	0,02	0,35	39,7	0,01	0,32	43,0	0,02	0,43	27,8	0,03	0,43	26,9	0,01	0,34	38,6	0,01	0,32	42,6
7.	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_z = 1, \beta_x = 0,5$	-0,02	0,27	96,0	0,00	0,28	96,3	0,05	0,44	28,0	0,03	0,35	28,7	0,01	0,32	42,9	0,03	0,43	26,9	0,02	0,43	26,9	0,02	0,34	37,4	0,01	0,32	42,5
	$\rho_{xz} = 0, \beta_z = 0,5, \beta_x = 1$	-0,07	0,26	96,6	0,02	0,29	97,0	0,11	0,55	77,5	0,06	0,42	89,5	0,04	0,37	92,0	0,07	0,51	76,0	0,05	0,41	89,2	0,03	0,37	91,8	0,03	0,37	91,8

Tabela 4.2: Simulacije, velikost kohorte  $n = 400$ . Rezultati za pristranskost regresijskega koeficienta  $\beta_x$ , variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta  $\hat{\beta}_x$  in odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja  $\alpha = 0,05$ .



	Kohorta			Kohorta s popravkom			Kontrola 1:1			Kontrola 1:2			Kontrola 1:3			Kontrola 1:1 (pogojna)			Kontrola 1:2 (pogojna)			Kontrola 1:3 (pogojna)			
	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	Prist.	SD	P	
<b>1.</b>	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0, \beta_x = 0$	0,00	0,21	4,8	0,00	0,21	4,9	0,00	0,33	4,3	0,00	0,27	4,1	0,00	0,25	4,3	0,00	0,32	4,0	0,00	0,26	3,9	0,00	0,24	4,2
	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0$	0,00	0,21	4,8	0,00	0,21	4,9	0,00	0,32	4,3	0,00	0,27	4,1	0,00	0,25	4,2	0,00	0,31	4,1	0,00	0,26	3,9	0,00	0,24	4,1
	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0, \beta_x = 1, \beta_x = 0$	0,00	0,21	4,8	0,00	0,22	4,7	0,00	0,32	4,0	0,00	0,27	4,2	0,00	0,25	4,5	0,00	0,31	3,8	0,00	0,26	4,1	0,00	0,24	4,3
<b>2.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0$	0,15	0,21	10,5	0,00	0,22	4,9	0,00	0,31	3,2	0,00	0,26	3,5	0,00	0,24	3,4	0,00	0,30	2,9	0,00	0,25	3,3	0,00	0,24	3,4
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0$	0,25	0,21	21,9	0,00	0,24	5,0	0,00	0,28	1,9	0,01	0,24	2,1	0,00	0,22	2,1	0,00	0,28	1,8	0,01	0,24	2,0	0,01	0,22	2,0
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0$	0,40	0,21	47,9	0,00	0,35	4,8	0,00	0,20	0,2	0,01	0,17	0,2	0,00	0,16	0,2	0,00	0,20	0,2	0,00	0,17	0,2	0,01	0,16	0,2
<b>3.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 1, \beta_x = 0$	0,28	0,21	27,1	0,00	0,23	4,8	0,00	0,31	3,4	0,00	0,26	3,6	0,01	0,24	3,8	0,00	0,31	3,2	0,00	0,26	3,4	0,01	0,24	3,7
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 1, \beta_x = 0$	0,48	0,22	62,9	0,00	0,25	4,9	0,01	0,29	2,1	0,02	0,25	2,5	0,03	0,23	2,6	0,01	0,28	2,0	0,02	0,24	2,4	0,03	0,23	2,6
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 1, \beta_x = 0$	0,79	0,22	94,8	0,00	0,37	4,9	0,02	0,21	0,2	0,03	0,18	0,3	0,05	0,18	0,5	0,02	0,21	0,2	0,03	0,18	0,3	0,05	0,18	0,5
<b>4.</b>	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0, \beta_x = 0,5$	0,00	0,22	65,1	0,01	0,22	64,9	0,05	0,36	38,0	0,03	0,29	49,6	0,02	0,27	54,6	0,03	0,35	36,8	0,02	0,29	48,9	0,01	0,27	54,2
	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0, \beta_x = 1$	0,01	0,23	99,6	0,02	0,23	99,5	0,09	0,44	87,8	0,06	0,33	95,8	0,05	0,30	97,7	0,07	0,42	87,3	0,04	0,33	95,6	0,03	0,30	97,7
	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0,5$	-0,01	0,22	64,0	0,00	0,22	64,6	0,05	0,36	37,9	0,03	0,30	49,4	0,02	0,27	54,5	0,03	0,35	36,8	0,02	0,29	49,0	0,01	0,27	54,1
<b>5.</b>	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 1, \beta_x = 0,5$	-0,03	0,22	59,9	0,00	0,23	63,2	0,04	0,35	36,7	0,02	0,30	50,1	0,02	0,27	54,5	0,03	0,34	36,1	0,02	0,29	49,4	0,01	0,27	54,0
	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 0,5, \beta_x = 1$	-0,01	0,23	99,2	0,02	0,24	99,0	0,09	0,43	89,2	0,05	0,33	95,8	0,04	0,30	97,3	0,06	0,42	88,8	0,04	0,32	95,8	0,03	0,29	97,2
	$\rho_{xz} = 0, \beta_x = 1, \beta_x = 1$	-0,07	0,22	98,6	0,02	0,25	98,9	0,08	0,44	87,4	0,05	0,34	95,5	0,03	0,30	97,2	0,06	0,42	86,5	0,03	0,33	95,4	0,02	0,30	97,0
<b>6.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 0, \beta_x = 0,5$	0,01	0,22	66,4	0,01	0,23	61,9	0,00	0,33	32,1	-0,01	0,27	41,1	-0,02	0,26	45,7	-0,01	0,33	31,0	-0,02	0,27	40,6	-0,03	0,25	45,3
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 0, \beta_x = 0,5$	0,00	0,22	65,4	0,01	0,26	53,3	-0,09	0,31	20,3	-0,10	0,25	28,6	-0,10	0,24	33,6	-0,10	0,30	19,4	-0,10	0,25	27,9	-0,10	0,24	33,2
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 0, \beta_x = 0,5$	0,00	0,22	64,4	0,01	0,36	28,5	-0,30	0,20	1,2	-0,30	0,17	1,7	-0,30	0,17	3,4	-0,30	0,20	1,2	-0,30	0,17	1,6	-0,30	0,16	3,3
<b>7.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 0, \beta_x = 1$	0,01	0,24	98,9	0,01	0,26	98,5	0,01	0,41	88,3	-0,02	0,33	93,4	-0,03	0,31	95,7	-0,02	0,40	82,7	-0,04	0,32	93,3	-0,05	0,30	95,5
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 0, \beta_x = 1$	0,01	0,24	99,4	0,02	0,28	97,2	-0,16	0,36	70,1	-0,18	0,30	84,1	-0,18	0,27	89,8	-0,18	0,35	69,0	-0,19	0,29	88,9	-0,19	0,27	89,2
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 0, \beta_x = 1$	0,02	0,25	98,9	0,02	0,39	78,9	-0,57	0,24	12,5	-0,57	0,21	23,0	-0,55	0,20	31,7	-0,58	0,24	11,8	-0,57	0,20	21,8	-0,56	0,20	31,2
<b>7.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0,5$	0,15	0,22	85,0	0,01	0,24	59,8	0,01	0,35	32,8	0,00	0,28	43,0	-0,01	0,26	47,9	0,00	0,34	32,1	-0,01	0,28	42,6	-0,02	0,26	47,2
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0,5$	0,25	0,22	93,4	0,00	0,26	51,4	-0,08	0,32	22,0	-0,08	0,27	31,7	-0,08	0,25	35,9	-0,09	0,31	21,2	-0,09	0,26	31,2	-0,08	0,25	35,5
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 0,5, \beta_x = 0,5$	0,41	0,24	98,1	0,00	0,37	29,0	-0,28	0,22	1,6	-0,27	0,20	3,6	-0,25	0,19	6,5	-0,29	0,22	1,6	-0,27	0,19	3,5	-0,26	0,19	6,5
<b>7.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 0,5, \beta_x = 1$	0,15	0,25	99,6	0,02	0,26	98,4	0,02	0,40	88,7	0,01	0,34	94,7	0,00	0,31	96,4	0,00	0,39	83,0	-0,01	0,33	94,2	-0,02	0,31	96,3
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 0,5, \beta_x = 1$	0,26	0,26	99,7	0,03	0,29	96,8	-0,11	0,38	73,3	-0,12	0,31	86,1	-0,12	0,30	90,5	-0,13	0,37	72,2	-0,14	0,31	85,8	-0,13	0,29	90,3
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 0,5, \beta_x = 1$	0,43	0,28	100	0,02	0,41	75,3	-0,50	0,27	18,5	-0,46	0,25	36,3	-0,41	0,25	51,0	-0,51	0,26	17,4	-0,47	0,24	35,4	-0,41	0,25	50,4
<b>7.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 1, \beta_x = 0,5$	0,26	0,21	94,6	0,01	0,24	59,0	0,01	0,33	31,2	0,01	0,27	44,4	0,01	0,26	50,3	0,00	0,33	30,7	0,00	0,27	43,5	0,00	0,26	49,4
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 1, \beta_x = 0,5$	0,46	0,23	98,6	0,01	0,27	48,7	-0,05	0,33	23,1	-0,04	0,28	34,6	-0,02	0,27	44,3	-0,06	0,32	22,3	-0,05	0,27	34,2	-0,02	0,26	44,0
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 1, \beta_x = 0,5$	0,79	0,27	99,9	0,01	0,40	27,4	-0,22	0,26	3,3	-0,18	0,24	9,6	-0,12	0,25	20,2	-0,23	0,25	3,1	-0,19	0,24	9,4	-0,12	0,25	20,2
<b>7.</b>	$\rho_{xz} = 0,3, \beta_x = 1, \beta_x = 1$	0,23	0,26	99,6	0,04	0,28	98,2	0,07	0,45	83,5	0,05	0,36	94,7	0,04	0,33	96,6	0,05	0,44	83,2	0,04	0,35	94,6	0,03	0,32	96,5
	$\rho_{xz} = 0,5, \beta_x = 1, \beta_x = 1$	0,43	0,28	100	0,03	0,31	95,4	-0,04	0,41	72,5	-0,05	0,35	87,5	-0,03	0,32	92,5	-0,06	0,40	71,9	-0,06	0,34	87,5	-0,04	0,31	92,4
	$\rho_{xz} = 0,8, \beta_x = 1, \beta_x = 1$	0,79	0,32	100	0,04	0,43	70,8	-0,37	0,32	30,6	-0,27	0,32	57,0	-0,15	0,34	74,1	-0,38	0,31	29,1	-0,28	0,32	55,7	-0,16	0,33	73,8

Tabela 4.3: Simulacije, velikost kohorte  $n = 500$ . Rezultati za pristranskost regresijskega koeficienta  $\beta_x$ , variabilnost ocenjenega regresijskega koeficienta  $\hat{\beta}_x$  in odstotek statistično značilnih rezultatov pri stopnji tveganja  $\alpha = 0,05$ .

študiji, ko sta bili pojasnjevalna in moteča spremenljivka med seboj odvisni ter je bil hkrati izid odvisen od moteče spremenljivke (sklop 3). Vrednost koeficienta je bila v teh primerih precenjena. Precenjenosti smo se z uporabo kohortne študije s popravkom znebili, z uporabo študije s kontrolno skupino pa opazno zmanjšali. Med rezultati pristranskosti pri nepogojni in pogojni logistični regresiji skoraj ni razlik.

Tako kot pri simulacijah pod ničelno hipotezo smo tudi pri simulacijah pod alternativno hipotezo videli, da smo v sklopu, kjer sta bili pojasnjevalna in moteča spremenljivka med seboj povezani ter je bil hkrati izid odvisen od moteče spremenljivke, dobili precenjene vrednosti koeficientov (sklop 7). Precenjenost se je popravila, ko smo naredili popravek za motečo spremenljivko. Zmanjšala se je tudi z uporabo študije s kontrolno skupino. Nam je pa študija s kontrolno skupino v primeru velike korelacije med spremenljivkama ( $\rho_{xz} = 0,8$ ) vrnila podcenjene vrednosti, ne glede na to, ali je bil izid odvisen od moteče spremenljivke ali ne.

Pri simulacijah pod alternativno hipotezo, ko pojasnjevalna in moteča spremenljivka med seboj nista bili odvisni (sklopa 4 in 5), je bila pristranskost pri nepogojni logistični regresiji večja kot pristranskost pri pogojni logistični regresiji. Obratno je v sklopih, kjer sta bili pojasnjevalna in moteča spremenljivka odvisni med seboj (sklopa 6 in 7). V tem primeru smo dobili boljše ocene koeficientov v primeru nepogojne logistične regresije.

### **Variabilnost ocenjenih regresijskih koeficientov**

Pri retrospektivni kohortni študiji pri simulacijah pod ničelno hipotezo opazimo, da je standardni odklon regresijskega koeficienta pravzaprav povsod enak. V primeru, ko smo pri kohortni študiji uporabili popravek za motečo spremenljivko, se je izkazalo, da je standardni odklon odvisen od povezanosti med motečo in pojasnjevalno spremenljivko, saj je bil pri večji povezanosti odklon večji. Obratno se zgodi pri študiji s kontrolno skupino, kjer se odklon z večjo povezanostjo zmanjšuje, prav tako pa se, kot pričakovano, zmanjšuje z večanjem števila kon-

trol. Primerjava nepogojne in pogojne logistične regresije kaže, da so standardni odkloni pri drugi nekoliko manjši.

Standardni odklon je bil tudi v primeru simulacij pod alternativno hipotezo pri retrospektivni kohortni študiji znotraj posameznega sklopa enak pri isti vrednosti regresijskega koeficienta  $\beta_x$ . Izjema je bil zadnji sklop, kjer smo imeli izid odvisen od obeh spremenljivk ter povezanost med spremenljivkama. V tem sklopu se je standardni odklon nekoliko povečal z večanjem korelacije med spremenljivkama. Pri primerjavi standardnega odklona med kohortno študijo in kohortno študijo s popravkom za motečo spremenljivko smo opazili, da so standardni odkloni pri popravku večji. Pri kohortni študiji s popravkom se standardni odklon glede na korelacijo med spremenljivkama ne veča samo v zadnjem, 7. sklopu, ampak tudi v 6. sklopu. To je bilo pričakovano, saj korelirane pojasnjevalne spremenljivke povečajo variabilnost ocen. V teh dveh sklopih je pri študiji s kontrolno skupino prišlo do ravno obratnega pojava, saj se je standardni odklon z večanjem korelacije manjšal.

### Testiranje hipoteze

Retrospektivna kohortna študija nam je precenila napake 1. vrste, ko sta bili pojasnjevalna in moteča spremenljivka med seboj odvisni (sklop 3). Napaka se je z uporabo popravka zmanjšala. Pri študiji s kontrolno skupino se je zgodilo ravno obratno, in sicer smo dobili podcenjene vrednosti napake 1. vrste. To se opazi predvsem pri veliki korelaciji med pojasnjevalno in motečo spremenljivko. Pri retrospektivni kohortni študiji s popravkom so bile napake 1. vrste pri vseh velikostih kohorte med 4,6 in 5,3 %, kar pomeni, da so bile vse vrednosti znotraj sprejemljivega okvirja.

Za moč smo hitro opazili, da večja odvisnost izida od pojasnjevalne spremenljivke pomeni večjo moč. Pri kohortni študiji s popravkom smo videli, da na moč vpliva tudi korelacija  $\rho_{xz}$ . Tako smo pri istem  $\beta_x$  in  $\beta_z$  ter pri različnih vrednostih povezanosti pojasnjevalne in moteče spremenljivke zaznali, da se je, ko se

je korelacija večala, moč manjšala. To je bila pričakovana posledica variabilnosti zaradi korelirane pojasnjevalne spremenljivke. Enako je veljalo za študijo s kontrolno skupino. Pri primerjavi moči med kohortno študijo s popravkom in študijo s kontrolno skupino smo opazili, da je bila moč študije s kontrolno skupino slabša od moči kohortne študije s popravkom. To je bilo res tudi za razmerje 1:3, kjer je bila moč študije s kontrolno skupino največja, saj je z večanjem števila kontrol moč naraščala. Znotraj študije s kontrolno skupino smo videli, da se statistična moč testa med nepogojno in pogojno regresijo ne razlikuje veliko. Mogoče je za malenkost večja pri nepogojni regresiji.

Pri pregledu rezultatov za moč je še posebej izstopala nizka moč pri študiji s kontrolno skupino v sklopih 6 in 7, kjer je bila povezanost med pojasnjevalno spremenljivko in izidom  $\beta_x = 0,5$  ter korelacija med spremenljivkama  $\rho_{xz} = 0,8$ . Iz tega bi lahko sklepali, da študije s kontrolno skupino ni priporočljivo uporabiti v primeru, ko sta pojasnjevalna in moteča spremenljivka močno povezani med seboj in ko odvisnost izida od pojasnjevalne spremenljivke ni velika.

## 5 Razprava

V nalogi smo uporabili univariatno in multiplo logistično regresijo na dejanskih podatkih o klopnem meningoencefalitisu. Pri tem smo se osredotočili na primerjavo rezultatov med retrospektivno kohortno študijo in študijo s kontrolno skupino. Pri študiji s kontrolno skupino smo dodatno primerjali rezultate nepogojne in pogojne logistične regresije. Pri obeh študijah smo opazili, da ima na rezultate lahko viden vpliv moteča spremenljivka, čemur smo namenili dodatno pozornost z uporabo simulacij.

Pri analizi dejanskih podatkov smo dobili nekaj statistično značilnih rezultatov. Retrospektivna kohortna študija nam je pri univariatni logistični regresiji podala statistično značilne rezultate pri spremenljivkah *število levkocitov v likvorju*, *koncentracija proteinov v likvorju*, *količnik albuminov* in *količnik IgG*. Pri študiji s kontrolno skupino dobimo zgolj mejno statistično značilne rezultate pri obeh količnik, kar je lahko zgolj posledica velikega deleža manjkajočih podatkov. Multipla logistična regresija ni imela statistično značilnih rezultatov.

Pri analizi podatkov o klopnem meningoencefalitisu smo sprva uporabili tri različne statistične teste: Waldov test, Score test in test z razmerjem verjetij. Vsi testi so vračali zelo podobne rezultate, zato smo se odločili, da obdržimo zgolj enega od njih, in sicer smo obdržali Waldov test, ker je to v splošnem najpogosteje uporabljen statistični test. Isti test smo potem uporabili tudi pri simulacijah.

Primerjava rezultatov retrospektivne kohortne študije brez in s popravkom za moteči spremenljivki pri analizi dejanskih podatkov je pokazala, da smo imeli pri dveh spremenljivkah, *spremljajoče bolezni* in *število levkocitov v likvorju*,

vpliv motečih spremenljivk. Predvsem pri prvi omenjeni spremenljivki je lepo vidno, kako smo z uporabo popravka za moteči spremenljivki in z uporabo študije s kontrolno skupino zmanjšali vpliv motečih spremenljivk. Študiji sta vrnila primerljive ocene, natančnost je bila nekoliko boljša pri retrospektivni kohortni študiji s popravkom. Tudi rezultati simulacij potrjujejo, da v primerih, ko sta moteča in pojasnjevalna spremenljivka povezani med seboj in je izid odvisen vsaj od moteče spremenljivke, dobimo pri retrospektivni kohortni študiji pristranske rezultate, nato pa s popravkom za motečo spremenljivko to pristranskost močno zmanjšamo.

V teoretičnem delu naloge je bilo napisano, da se pri študiji s kontrolno skupino statistična moč testa izboljšuje z večanjem števila kontrol. Tega s post-hoc izračunom statistične moči na dejanskih podatkih nismo uspeli pokazati. Smo pa opazili, da drži dejstvo, da post-hoc statistična moč ne presega 70 % oziroma 50 % pri statistično neznačilnih rezultatih. Teorijo o tem, da se statistična moč izboljšuje z večanjem števila kontrol, so dokazali rezultati simulacij. Razlika v moči med razmerjem 1:1 in 1:2 je večja kot med razmerjem 1:2 in 1:3. Iz tega sklepamo, da bi statistično moč s še eno kontrolo mogoče še izboljšali, nato pa bi bilo izboljšanje zelo majhno.

Študija s kontrolno skupino je pri analizi dejanskih podatkov pokazala, da nepogojna in pogojna logistična regresija vračata enakovredne rezultate, saj smo dobili skoraj identične vrednosti ocen razmerja obetov. Natančnost ocene je bila malenkost boljša pri pogojni logistični regresiji, vendar je razlika zanemarljiva. Je pa imela pogojna logistična regresija rahlo manjšo moč kot nepogojna. Vse omenjene ugotovitve v tem odstavku so rezultati simulacij potrdili. To potrjuje ugotovitve Neila Pearcea v članku *Analysis of matched case-control studies* [13], kjer je zapisano: "Provided that there are no problems of sparse data, control for the matching factors can be obtained, with no loss of validity and a possible increase in precision, using a 'standard' (unconditional) analysis, and a 'matched' (conditional) analysis may not be required or appropriate."

S simulacijami nismo želeli samo podkrepiti rezultatov analize dejanskih podatkov, temveč smo želeli preveriti tudi, v katerih primerih je bolje uporabiti retrospektivno kohortno študijo in v katerih študijo s kontrolno skupino. Študije s kontrolno skupino ne bi priporočili v primerih, ko imamo korelacijo med motečo in pojasnjevalno spremenljivko ter je izid odvisen od pojasnjevalne spremenljivke. Simulacije so pokazale, da retrospektivna kohortna študija v takih primerih ni zelo pristranska, študija s kontrolno skupino pa opazno podceni rezultate (sklop 6). To bi lahko povezali z analizo spremenljivke *koncentracija proteinov v likvorju*. Vsekakor pa bi uporabo študije s kontrolno skupino odsvetovali v primeru velike povezanosti med motečo in pojasnjevalno spremenljivko, saj so simulacije pokazale, da v tem primeru dobimo znatno podcenjeno napako 1. vrste oziroma izredno nizko statistično moč in podcenjenost regresijskega koeficienta. Primer, ko bi bilo smiselno uporabiti študijo s kontrolno skupino, je pri veliki odvisnosti izida od pojasnjevalne spremenljivke ter hkrati zelo nizki ali neobstoječi povezanosti med pojasnjevalno in motečo spremenljivko. V splošnem pa so rezultati simulacij pokazali, da se v vseh sklopih bolje obnese retrospektivna kohortna študija.

Razmislek izven rezultatov simulacij bi lahko bil, da bi bila retrospektivna kohortna študija bolj zahtevna in zamudna v situaciji, ko imamo veliko kohorto, pri kateri je potrebno še veliko ročnega dopolnjevanja podatkov. Zagotovo je lažje, če pri tem izbereš primere in kontrole ter pridobiš oziroma dopolniš podatke zgolj za te izbrane posameznike. V primeru, da želimo dobiti rezultate tudi za moteče spremenljivke, pa ne moremo uporabiti študije s kontrolno skupino. Prav tako je ne moremo uporabiti, ko izid ni dihotomen, se pravi, če bi kot izid vzeli različne stopnje bolezni in ne samo dejstva, ali se je bolezen razvila ali ne.





## 6 Zaključek

Pri univariatni logistični regresiji (retrospektivna kohortna študija) in pri retrospektivni kohortni študiji s popravkom za moteči spremenljivki smo dobili statistično značilne rezultate pri pojasnjevalnih spremenljivkah: *število levkocitov v likvorju, koncentracija proteinov v likvorju, količnik albuminov in količnik IgG*. S tem smo zavrnili ničelno domnevo, da oblika bolezni klopnega meningoencefalitisa ni odvisna od pojasnjevalne spremenljivke. Multipla logistična regresija ni vrnila statistično značilnih rezultatov.

Nepogojna in pogojna logistična regresija vračata enakovredne rezultate oziroma ima nepogojna malenkost boljšo statistično moč. To potrjuje domnevo, da v primeru, ko uporabimo ujemanje, ni nujno uporabiti pogojne analize.

Statistična moč študije se z večanjem števila kontrol pri študiji s kontrolno skupino izboljšuje, vendar je z vsako dodatno kontrolo izboljšanje manjše.

Pri retrospektivni analizi podatkov je pomembno, da smo pozorni na vpliv motečih spremenljivk. V večini primerov je vseeno, ali uporabimo retrospektivno kohortno študijo ali študijo s kontrolno skupino, razen v primeru velike povezanosti med pojasnjevalno in motečo spremenljivko, kjer uporabo študije s kontrolno skupino odsvetujemo, saj pride do prekomernega usklajevanja.



## Literatura

- [1] K. A. Levin, “Study design III: Cross-sectional studies,” *Evidence-based dentistry*, vol. 7, no. 1, str. 24–25, 2006.
- [2] Descriptive and Analytic Studies. Dosegljivo: [https://www.cdc.gov/globalhealth/healthprotection/fetp/training\\_modules/19/desc-and-analytic-studies\\_ppt\\_final\\_09252013.pdf](https://www.cdc.gov/globalhealth/healthprotection/fetp/training_modules/19/desc-and-analytic-studies_ppt_final_09252013.pdf). [Dostopano: 4. 2. 2019].
- [3] Wikipedia. Dosegljivo: <https://en.wikipedia.org/wiki/Confounding>. [Dostopano: 4. 2. 2019].
- [4] R Core Team, *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019.
- [5] Segen’s Medical Dictionary. Dosegljivo: <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/analytical+study>. [Dostopano: 4. 2. 2019].
- [6] P. Jepsen, S. Johnsen, M. Gillman in H. Sørensen, “Interpretation of observational studies,” *Heart*, vol. 90, no. 8, str. 956–960, 2004.
- [7] M. S. Setia, “Methodology series module 3: Cross-sectional studies,” *Indian journal of dermatology*, vol. 61, no. 3, str. 261–264, 2016.
- [8] Wikipedia. Dosegljivo: [https://en.wikipedia.org/wiki/Cohort\\_\(military\\_unit\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Cohort_(military_unit)). [Dostopano: 4. 2. 2019].

- 
- [9] G. W. Comstock, "Cohort analysis: W. H. Frost's contributions to the epidemiology of tuberculosis and chronic disease," *Sozial-und Präventivmedizin*, vol. 46, no. 1, str. 7–12, 2001.
- [10] J. W. Song in K. C. Chung, "Observational studies: cohort and case-control studies," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 126, no. 6, str. 2234–2242, 2010.
- [11] I. dos Santos Sliva, *Cancer Epidemiology: Principles and Methods*. International Agency for Research on Cancer, 1999.
- [12] A. Gerritsen. Dosegljivo: <http://www.theanalysisfactor.com/cohort-and-case-control-studies-pros-and-cons/>. [Dostopano: 4. 2. 2019].
- [13] N. Pearce, "Analysis of matched case-control studies," *bmj*, vol. 352, str. i969, 2016.
- [14] L. Hansson, "Statistical considerations in the analysis of matched case-control studies," 2001.
- [15] A. Hazra in N. Gogtay, "Biostatistics series module 4: Comparing groups - categorical variables," *Indian Journal of Dermatology*, vol. 61, no. 4, str. 385–392, 2016.
- [16] Dosegljivo: <http://www.brettscaife.net/statistics/introstat/06risk/lecture.html>. [Dostopano: 4. 2. 2019].
- [17] Wikipedia. Dosegljivo: [https://en.wikipedia.org/wiki/Relative\\_risk](https://en.wikipedia.org/wiki/Relative_risk). [Dostopano: 4. 2. 2019].
- [18] M. Szumilas, "Explaining odds ratios," *Journal of the Canadian academy of child and adolescent psychiatry*, vol. 19, no. 3, str. 227, 2010.
- [19] A. Agresti, *Categorical data analysis*, vol. 482. John Wiley & Sons, 2003.

- 
- [20] N. Breslow, N. Day in J. J. Schlesselman, “Statistical methods in cancer research. Volume 1 - The analysis of case-control studies,” *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, vol. 24, no. 4, 1982.
- [21] T. M. Therneau. Dosegljivo: <https://cran.r-project.org/web/packages/survival/>. [Dostopano: 06. 06. 2019].
- [22] G. Heinze in M. Schemper, “A solution to the problem of separation in logistic regression,” *Statistics in medicine*, vol. 21, no. 16, str. 2409–2419, 2002.
- [23] G. Heinze. Dosegljivo: <https://cran.r-project.org/web/packages/logistf/>. [Dostopano: 06. 06. 2019].
- [24] J. Albright. Dosegljivo: <https://blog.methodsconsultants.com/posts/delta-method-standard-errors/>. [Dostopano: 15. 06. 2019].
- [25] F. J. Dorey, “In brief: Statistics in brief: Statistical power: What is it and when should it be used?,” *Clinical orthopaedics and related research*, vol. 469, no. 2, str. 619–620, 2011.
- [26] A. Banerjee, U. Chitnis, S. Jadhav, J. Bhawalkar in S. Chaudhury, “Hypothesis testing, type I and type II errors,” *Industrial psychiatry journal*, vol. 18, no. 2, str. 127, 2009.
- [27] J. Cohen, “Statistical power analysis,” *Current directions in psychological science*, vol. 1, no. 3, str. 98–101, 1992.
- [28] W. Qiu. Dosegljivo: <https://cran.r-project.org/web/packages/powerMediation/>. [Dostopano: 20. 01. 2019].
- [29] K. Slavec in A. Radšel Medvešček, “Klopi – prenašalci povzročiteljev nalezljivih bolezni (1. del),” *Proteus*, vol. 75, no. 2, str. 55–62, 2012.

- 
- [30] T. Stanič, *Diplomska naloga: Laboratorijska diagnostika klopnega meningoencefalitisa*. Elektronska verzija dostopna na [http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/diplome/2010/Stanic\\_Tina\\_dipl\\_nal\\_2010.pdf](http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/diplome/2010/Stanic_Tina_dipl_nal_2010.pdf), 2010.
- [31] Sodelavci Medicinske fakultete v Ljubljani in drugi, “Slovenski medicinski slovar [elektronski vir],” 2012.
- [32] M. Arnež, “Encefalitis in mielitis,” *Slovenska pediatrija*, vol. 23, no. 3, str. 176–196, 2016.
- [33] H. Reiber, “External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/serum quotients,” *Clinical Chemistry*, vol. 41, no. 2, str. 256–263, 1995.
- [34] P. Bogovič, S. Lotrič-Furlan, T. Avšič-Županc, L. Lusa in F. Strle, “Factors associated with severity of tick-borne encephalitis: A prospective observational study,” *Travel medicine and infectious disease*, vol. 26, str. 25–31, 2018.
- [35] D. E. Ho. Dosegljivo: <https://cran.r-project.org/web/packages/MatchIt/>. [Dostopano: 06. 06. 2019].
- [36] C.-L. Kuo, Y. Duan in J. Grady, “Unconditional or conditional logistic regression model for age-matched case-control data?,” *Frontiers in public health*, vol. 6, str. 57, 2018.
- [37] RPubs. Dosegljivo: [https://rpubs.com/kaz\\_yos/clogit](https://rpubs.com/kaz_yos/clogit). [Dostopano: 26. 01. 2019].
- [38] B. Košmelj, “Statistični terminološki slovar [elektronski vir],” 2014.

# Dodatek





## A Multipla logistična regresija

<i>n=310</i>	<b>OR</b>	<b>95 % IZ</b>	<b>Vrednost p</b>
<b>(Konstanta)</b>	0,00	0,00–0,11	0,00
<b>Starost</b>	2,43	0,87–6,84	0,09
<b>Spol</b>	0,82	0,26–2,59	0,74
<b>Spremljajoče bolezni</b>	0,38	0,10–1,44	0,15
<b>Dvofazni potek bolezni</b>	0,47	0,14–1,60	0,23
<b>Število levkocitov</b>	1,36	0,91–2,05	0,14
<b>Koncentracija proteinov</b>	0,83	0,28–2,44	0,74
<b>Količnik albuminov</b>	0,83	0,24–2,91	0,77
<b>Količnik IgG</b>	1,96	0,63–6,08	0,25

Tabela A.1: Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, retrospektivna kohortna študija.

<i>n=414</i>	<b>OR</b>	<b>95 % IZ</b>	<b>Vrednost p</b>
<b>(Konstanta)</b>	0,00	0,00–0,07	0,00
<b>Starost</b>	2,16	0,99–4,74	0,05
<b>Spol</b>	1,40	0,52–3,80	0,51
<b>Spremljajoče bolezni</b>	0,37	0,12–1,12	0,08
<b>Dvofazni potek bolezni</b>	0,52	0,19–1,41	0,20
<b>Število levkocitov</b>	1,24	0,87–1,75	0,23
<b>Koncentracija proteinov</b>	1,24	0,83–1,87	0,29
<b>Količnik albuminov</b>	/	/	/
<b>Količnik IgG</b>	/	/	/

Tabela A.2: Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, retrospektivna kohortna študija. Model brez spremenljivk *količnik albuminov* in *količnik IgG*.

<i>nepogojna; pogojna regresija</i> <i>1:1: n=30, 1:2: n=42, 1:3: n=58</i>	<b>OR</b>	<b>95 % IZ</b>	<b>Vrednost p</b>
<b>Spremljajoče bolezni 1:1</b>	0,45; 0,47	0,08–2,52; 0,09–2,51	0,37; 0,38
<b>Spremljajoče bolezni 1:2</b>	0,59; 0,60	0,13–2,64; 0,14–2,62	0,49; 0,50
<b>Spremljajoče bolezni 1:3</b>	0,42; 0,42	0,10–1,69; 0,10–1,70	0,22; 0,23
<b>Dvofazni potek bolezni 1:1</b>	0,84; 0,85	0,16–4,56; 0,16–4,45	0,84; 0,84
<b>Dvofazni potek bolezni 1:2</b>	0,47; 0,48	0,10–2,25; 0,10–2,24	0,34; 0,35
<b>Dvofazni potek bolezni 1:3</b>	0,49; 0,50	0,12–2,01; 0,12–2,01	0,32; 0,33
<b>Število levkocitov 1:1</b>	1,56; 1,54	0,29–8,47; 0,29–8,14	0,61; 0,61
<b>Število levkocitov 1:2</b>	1,85; 1,82	0,69–4,93; 0,69–4,79	0,22; 0,22
<b>Število levkocitov 1:3</b>	1,20; 1,19	0,74–1,95; 0,74–1,93	0,46; 0,47
<b>Koncentracija proteinov 1:1</b>	0,17; 0,18	0,01–3,21; 0,01–3,23	0,24; 0,25
<b>Koncentracija proteinov 1:2</b>	0,30; 0,31	0,03–3,16; 0,03–3,15	0,32; 0,32
<b>Koncentracija proteinov 1:3</b>	0,38; 0,39	0,05–3,24; 0,05–3,24	0,38; 0,38
<b>Količnik albuminov 1:1</b>	2,34; 2,27	0,03–203,59; 0,03–181,98	0,71; 0,71
<b>Količnik albuminov 1:2</b>	0,97; 0,97	0,05–18,25; 0,05–17,50	0,98; 0,98
<b>Količnik albuminov 1:3</b>	1,07; 1,07	0,12–9,43; 0,12–9,21	0,95; 0,95
<b>Količnik IgG 1:1</b>	4,39; 4,19	0,13–145,68; 0,13–130,17	0,41; 0,41
<b>Količnik IgG 1:2</b>	3,34; 3,24	0,36–30,91; 0,36–29,17	0,29; 0,29
<b>Količnik IgG 1:3</b>	2,42; 2,38	0,34–17,48; 0,34–16,88	0,38; 0,39

Tabela A.3: Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, študija s kontrolno skupino.

<i>nepogojna; pogojna regresija</i> <i>1:1: n=37, 1:2: n=56, 1:3: n=75</i>	<b>OR</b>	<b>95 % IZ</b>	<b>Vrednost p</b>
<b>Spremljajoče bolezni 1:1</b>	0,45; 0,46	0,11–1,76; 0,12–1,76	0,25; 0,26
<b>Spremljajoče bolezni 1:2</b>	0,49; 0,50	0,14–1,69; 0,15–1,70	0,26; 0,27
<b>Spremljajoče bolezni 1:3</b>	0,37; 0,38	0,10–1,22; 0,12–1,22	0,10; 0,10
<b>Dvofazni potek bolezni 1:1</b>	0,50; 0,51	0,13–1,99; 0,13–1,99	0,33; 0,34
<b>Dvofazni potek bolezni 1:2</b>	0,44; 0,44	0,13–1,51; 0,13–1,51	0,19; 0,19
<b>Dvofazni potek bolezni 1:3</b>	0,37; 0,38	0,12–1,18; 0,12–1,19	0,09; 0,10
<b>Število levkocitov 1:1</b>	1,36; 1,35	0,48–3,84; 0,48–3,76	0,57; 0,57
<b>Število levkocitov 1:2</b>	1,40; 1,39	0,79–2,47; 0,79–2,44	0,24; 0,25
<b>Število levkocitov 1:3</b>	1,14; 1,13	0,77–1,67; 0,77–1,66	0,52; 0,52
<b>Koncentracija proteinov 1:1</b>	1,00; 1,00	0,49–2,03; 0,50–2,01	0,99; 0,99
<b>Koncentracija proteinov 1:2</b>	1,00; 1,00	0,54–1,82; 0,55–1,81	0,99; 0,99
<b>Koncentracija proteinov 1:3</b>	1,00; 1,00	0,56–1,79; 0,56–1,78	1,00; 1,00
<b>Količnik albuminov 1:1</b>	/	/	/
<b>Količnik albuminov 1:2</b>	/	/	/
<b>Količnik albuminov 1:3</b>	/	/	/
<b>Količnik IgG 1:1</b>	/	/	/
<b>Količnik IgG 1:2</b>	/	/	/
<b>Količnik IgG 1:3</b>	/	/	/

Tabela A.4: Razmerje obetov. Rezultati multiple logistične regresije, študija s kontrolno skupino. Model brez spremenljivk *količnik albuminov* in *količnik IgG*.

## B Slovarček uporabljene terminologije

angleški pojem	slovenski pojem
analytic studies	analitične študije
risk factor	dejavnik tveganja
rate ratio	razmerje stopenj
prevalence ratio	razmerje prevalenc
comparison group	primerjalna skupina
selection bias	pristranskost pri izbiri
prospective cohort study	prospektivna kohortna študija
retrospective cohort study	retrospektivna kohortna študija
recall bias	spominska pristranskost
individual matching	individualno usklajevanje
confounding variable	moteča spremenljivka
restriction	omejitev
over-matching	prekomerno usklajevanje
matched analysis	usklajevalna analiza
matched design	usklajevalni načrt
controlling	nadzor
statistical precision	statistična natančnost