



**MATEMATICKO-FYZIKÁLNÍ
FAKULTA**
Univerzita Karlova

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Martin Hezoučký

Křivky závislosti odpovědi na dávce

Katedra pravděpodobnosti a matematické statistiky

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Zdeněk Hlávka, Ph.D.

Studijní program: Matematika

Studijní obor: Pravděpodobnost, matematická
statistika a ekonometrie

Praha 2020

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů, literatury a dalších odborných zdrojů. Tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Beru na vědomí, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorského zákona v platném znění, zejména skutečnost, že Univerzita Karlova má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona.

V dne

Podpis autora

Děkuji svému vedoucímu diplomové práce doc. RNDr. Zdeňku Hlávkovi, Ph.D. za odborné vedení, za pomoc a rady při zpracování této práce. Dále bych chtěl poděkovat za konzultace a věcné rady Mgr. Martinu Otavovi, Ph.D.

Název práce: Křivky závislosti odpovědi na dávce

Autor: Martin Hezoučský

Katedra: Katedra pravděpodobnosti a matematické statistiky

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Zdeněk Hlávka, Ph.D., Katedra pravděpodobnosti a matematické statistiky

Abstrakt: V této práci se zabýváme procesem výzkumu a vývoje nových léčivých látek se speciálním zaměřením na statistické metody používané ke stanovení vhodných dávek léčiva. Za tímto účelem zkoumáme vztah mezi dávkou léku a účinkem.

Nejprve popíšeme typický postup vývoje nového léku a poté se detailně zaměříme na metodu MCP-Mod. Dále navrhne novou postup založený na teorii modelů postupné změny. Tato metoda nejprve testuje, zda má podání léku signifikantní účinek. Pokud ano, přistoupí se k odhadu výsledné dávky pomocí vhodného modelu. Konkrétně uvedeme odhad pomocí lineárního, kvadratického a Emax modelu postupné změny. Následně popisujeme konstrukci intervalu spolehlivosti pro bod změny, případně i pro dávku s požadovanými účinky. Výhoda vůči metodě MCP-Mod spočívá ve stanovení těchto intervalů spolehlivosti.

Nakonec použijeme výše uvedené metody na data pocházející z výzkumného programu U.S. Tox21 a porovnáme výsledky na několika testovaných látkách a názorně tak demonstrujeme použití a výhody jednotlivých metod.

Klíčová slova: dávka; odpověď; křivky; MED; MCP-Mod; model; postupné; změny; vývoj; lék; Tox21

Title: Dose-response curves

Author: Martin Hezoučký

Department: Department of Probability and Mathematical Statistics

Supervisor: doc. RNDr. Zdeněk Hlávka, Ph.D., Department of Probability and Mathematical Statistics

Abstract: In this thesis, we deal with the process of research and development of new medical substances with a focus on statistical methods used to determine appropriate doses. For this purpose, we examine the dose-response relationship.

First, we describe a typical procedure for the development of a new drug. Second, we focus in detail on the MCP-Mod method. Third, we propose a new method based on the theory of gradual change models. This approach tests whether the administration of the drug has a significant effect. If so, the dose with desired effect is estimated using an appropriate model. Specifically, we provide an estimate using linear, quadratic and Emax gradual change models. We also describe a construction of a confidence interval for the point of change and also for the dose with the desired effect. The advantage of the proposed method over the MCP-Mod is the determination of the confidence intervals.

Finally, we apply the above mentioned methods to data from the U.S. Tox21 research program and compare the results based on several tested substances and clearly demonstrate the application and advantages of each method.

Keywords: dose; response; curves; MED; MCP-Mod; gradual; change; model; drug; development; Tox21

Obsah

Úvod	3
1 Výzkum a vývoj nových léčiv	4
1.1 Typické přístupy hledání vhodné dávky	5
2 Základní značení a předpoklady	7
2.1 Mnohonásobná porovnávání	7
2.1.1 Testování hypotéz	8
2.1.2 Kontrola familywise error rate (FWER)	9
2.2 Modely závislosti odpovědi na dávce	10
2.3 Metoda MCP-Mod	11
2.4 Shrnutí a porovnání	17
3 Modely postupné změny	18
3.1 Detekce změny	18
3.1.1 Testování	19
3.1.2 Asymptotické vlastnosti a kritické hodnoty	20
3.1.3 Příklad detekce změny	22
3.2 Modelování: Lineární model postupné změny	24
3.2.1 Odhad lineárního modelu postupné změny	24
3.2.2 Asymptotické vlastnosti odhadů parametrů lineárního modelu postupné změny	25
3.2.3 Parametrický bootstrap pro lineární model postupné změny	26
3.2.4 Příklad	27
3.2.5 Simulační analýza intervalů spolehlivosti	30
3.3 Modelování: Kvadratický model postupné změny	32
3.3.1 Odhad kvadratického modelu postupné změny	34
3.3.2 Asymptotické vlastnosti odhadů parametrů kvadratického modelu postupné změny	35
3.3.3 Asymptotické vlastnosti MED	36
3.3.4 Parametrický bootstrap pro kvadratický model postupné změny	39
3.3.5 Příklad	40
3.3.6 Simulační analýza intervalů spolehlivosti	43
3.4 Modelování: Emax model postupné změny	45
3.4.1 Odhad Emax modelu postupné změny	45
3.4.2 Příklad	47
3.5 Shrnutí	49

4	Použití a porovnání metod na datech	50
4.1	Data	50
4.2	Testování aktivity	51
4.3	Odhad modelů pro aktivní látky	52
4.4	Odhad MED	57
4.5	Ověřování předpokladů	58
4.6	Shrnutí	60
	Závěr	62
	Seznam použité literatury	63

Úvod

V této práci se zabýváme procesem výzkumu a vývoje nových léčivých látek, speciálně se zaměřujeme na statistické metody používané ke stanovení vhodných dávek léčiva. Během tohoto procesu se mimo jiné zkoumá, zda má podání daného léčiva signifikantní a dostatečně velký efekt. Pokud se toto prokáže, přistoupí se k odhadu dávky s požadovanými účinky. K tomu je zapotřebí prozkoumat vztah mezi dávkou léku a účinkem.

V první kapitole je popsán typický postup vývoje nového léku a také zde uvádíme několik různých přístupů, které se dají použít při odhadu výsledné dávky.

Jedním ze současně používaných přístupů je metoda MCP-Mod, na kterou se detailně zaměříme ve druhé kapitole. MCP-Mod spočívá ve dvou na sebe navazujících krocích. Nejprve se zkoumá účinek léku pomocí mnohonásobného porovnávání a poté se výsledná dávka určí na základě vybrané množiny modelů závislosti odpovědi na dávce.

Ve třetí kapitole navrhne novým postup založený na teorii modelů postupné změny. Tyto modely zachycují odlišné chování odezvy po dosažení bodu změny. Většinou nalézají uplatnění v ekologii či meteorologii. Navržená metoda opět nejprve testuje, zda má podání léku signifikantní účinek. Pokud ano, přistoupí se k odhadu výsledné dávky pomocí vhodného modelu. Konkrétně uvedeme odhad pomocí lineárního, kvadratického a Emax modelu postupné změny. Dále také popíšeme konstrukci intervalu spolehlivosti pro bod změny a případně i pro dávku s požadovanými účinky. Výhoda vůči metodě MCP-Mod tedy spočívá především ve stanovení intervalu spolehlivosti pro výslednou dávku.

Ve čtvrté kapitole použijeme výše uvedené metody na veřejně dostupná data pocházející z výzkumného programu U.S. Tox21. Cílem tohoto programu je vývoj metod k posuzování toxicity chemických sloučenin. Nakonec ještě porovnáme výsledky použitých metod na několika testovaných látkách a názorně tak demonstrováme výhody jednotlivých metod.

1. Výzkum a vývoj nových léčiv

V této sekci shrneme celý proces vývoje nového léčiva především na základě Svobodník et al. [2014] a Součková et al. [2015] a všechny fáze sjednotíme s O'Quigley et al. [2017].

Výzkum a vývoj nových léčiv je časově i finančně velmi náročný proces. Od počátku výzkumu až po uvedení nového léčiva na trh uběhne v průměru 10–15 let. Při vývoji léku na jeden konkrétní problém se většinou pracuje s velkým množstvím potenciálně vhodných látek, ale mnoho z nich je v různých fázích testování vyřazeno. I proto se náklady na vývoj nového léku mohou pohybovat v přepočtu až okolo 50miliard korun. Zde je nutno podotknout, že ochranný patent na dané léčivo je platný 20 let od začátku vývoje. Nároky na vývoj se stále zvyšují, což je způsobeno mimo jiné snahou uvádět na trh stále bezpečnější a účinnější léčiva. V těchto případech jsou zpravidla vyžadovány detailnější a déletrvající bezpečnostní preklinické testy.

V literatuře se obvykle setkáváme s rozdělením vývoje léčiv do třech stádií.

- Stádium základního výzkumu.
- Stádium preklinického výzkumu.
- Stádium klinického výzkumu.

Základní výzkum se zaměřuje zejména na hledání správných molekul, u kterých se předpokládá dostatečný léčebný účinek a současně nízká toxicita. Dále pak na studium mechanismů uvnitř buňky a farmakogenomiku. Následuje syntéza účinné látky a její optimalizace, to vše probíhá v souladu se správnou laboratorní praxí a výsledky všech testů jsou zaznamenávány.

V preklinickém výzkumu se testuje účinná látka z hlediska toxicity, mechanismu účinku a farmakologických vlastností, například na izolovaných buňkách, tkáních či orgánech. Tento proces umožňuje snížit počet pokusných zvířat v dalších procedurách, ve kterých se stanovují vhodné dávky, sleduje vztah mezi dávkou a výskytem nežádoucích účinků a definuje maximální tolerovaná dávka (MTD). Z této dávky se odvozuje jiná dávka, která bude poprvé podána lidem v rámci klinického výzkumu. Cílem preklinické fáze je tedy zhodnocení nové účinné látky z hlediska její očekávané toxicity a účinnosti pro klinické použití na lidech.

Klinický výzkum nového léku probíhá nejčastěji ve čtyřech fázích. Jednotlivé procedury v těchto fázích se mohou částečně překrývat.

- Fáze I: Léčivý přípravek je poprvé podáván lidem (obvykle několika málo zdravým dobrovolníkům) a zkoumá se jeho farmakodynamika (efekt a mechanismus účinku) a farmakokinetika (pohyb látky v těle). Dále se tato fáze zaměřuje na zhodnocení bezpečnosti, tolerance a snášenlivosti léčivého přípravku. Stanovují se dávkovací schémata pro navazující fáze a někdy se v této fázi také určuje maximální dávka s ještě přijatelnými vedlejšími účinky, tzv. maximální tolerovaná dávka - MTD.

- Fáze II: V případě, že je léčivo na základě fáze I vyhodnoceno jako dostatečně bezpečné, postoupí se k další fázi. V ní se léčivá látka podává většímu počtu vybraných nemocných jedinců. Hlavním cílem je potvrzení bezpečnosti léku. Ověřuje se také jeho účinnost a farmakodynamický efekt na lidský organizmus. Dále se v této fázi identifikuje vhodná dávka či její rozsah tak, aby byla bezpečná a zároveň měla dostatečný léčivý potenciál. Odhaduje se například minimální efektivní dávka - MED a nebo také MTD.
- Fáze III: Pokud jsou výsledky z fáze II příznivé, přistoupí se k rozsáhlému a dlouhodobému testování v rámci fáze III. Léčivý přípravek je srovnáván s tzv. kontrolou, což je většinou placebo, komparátor (konkurenční léčivo) nebo i jiná dávka testovaného přípravku. Cílem této fáze je prokázat účinnost a bezpečnost daného léčiva na velkém počtu pacientů a získání potřebných podkladů pro jeho registraci. Po získání registrace je možné nové léčivo uvést na trh.
- Fáze IV: Spočívá v dlouhodobém sledování a testování bezpečnosti při užívání nového léku v reálné populaci a v podmínkách běžné klinické praxe v průběhu prodeje léku. Získávají se další informace o výskytu vedlejších a nežádoucích účinků při dlouhodobém podávání léčiva a informace o možných interakcích s jinými léky. Sleduje se také, jak léčivo ovlivňuje mortalitu pacientů.

Všechny preklinické a klinické studie musí být podle příslušných regulací prováděny za dodržení etických standardů v akreditovaných zařízeních a v souladu se správnou laboratorní praxí.

Tato práce se zabývá problematikou spjatou se stanovením vhodné dávky léčiva k dosažení požadované odezvy. Zaměříme se tedy na stádium preklinického výzkumu a na fáze I a II klinického výzkumu. Zejména na stanovení MED, MTD a určení rozsahu dávky při dosažení předem stanoveného účinku či bezpečnosti léčiva. Speciálně se budeme soustředit na vztah účinku a dávky.

1.1 Typické přístupy hledání vhodné dávky

V literatuře se setkáváme s mnoha různými způsoby odhadování vhodné dávky léku na základě pozorovaných odpovědí, od neparametrických metod [Staniswalis and Cooper, 1988] přes semiparametrické [Yuan and Yin, 2011] a Bayesovské metody [Thall and Cook, 2004] až po parametrické metody, na které se v této práci zaměříme. Výhoda parametrických metod je přímočarost a efektivita. Naopak neparametrické metody jsou robustnější.

Některé parametrické přístupy jsou založené na analýze rozptylu (ANOVA) a jiné na funkčním vztahu mezi dávkou a odezvou.

ANOVA metody hledají průměrnou dávku léku pouze mezi testovanými dávkami, a to například pomocí mnohonásobného porovnávání viz Hochberg and Tamhane [1987], Ivanova et al. [2012] a Budde and Bauer [1989]. Dávka je zde brána jako kvalitativní faktor a obecně se požaduje velmi málo předpokladů na

vztah mezi dávkou a odpovědí. Tuto metodu blíže popisujeme v podkapitole 2.1.

Modelovací techniky vnímají dávku jako kvantitativní faktor a předpokládají funkční vztah mezi dávkou a odpovědí. Tento přístup je obecně efektivní a umožňuje interpretovat i dávky mimo naměřené hodnoty. To je největší přednost tohoto přístupu, ale zároveň i jedna z jeho kritizovaných částí. Oponenti často argumentují tím, že není dobré uvádět jako výsledný odhad tu dávku, která nebyla skutečně měřena. Navíc jsou tyto techniky citlivé na správné určení funkční závislosti. Příkladem je metoda MCP-Mod [Bretz et al., 2005], kterou popisujeme v sekci 2.3.

V kapitole 3 uvedeme nový přístup, který spočívá v aplikaci modelů postupné změny. Bežně se tato technika nepoužívá k analýze vztahu mezi dávkou léku a odpovědí, ale například k detekci změn v časových řadách s uplatněním v ekologii či meteorologii [Jarušková and Antoch, 2002, Jarušková, 1997]. Tento přístup společně s metodou MCP-Mod aplikujeme v kapitole 4 na analyzovaná data a porovnáme výsledky.

2. Základní značení a předpoklady

Obecný a běžně užívaný rámec spočívá v pozorování odpovědi \mathbf{Y} , což může být buď proměnná měřící účinek léku nebo bezpečnost jeho použití. Tuto proměnnou budeme pozorovat na $k + 1$ skupinách pacientů ($k \geq 1$), které se odlišují množstvím podané látky - dávkou. Uvažujme tedy vzestupně seřazené, nezáporné a neopakující se dávky léčiva d_0, d_1, \dots, d_k a počty pacientů n_0, n_1, \dots, n_k příslušné těmto skupinám. Dávkou d_0 zde rozumíme placebo a příslušnou skupinu nazveme jako kontrolní. Kládeme tedy $d_0 = 0$. Počet všech pozorovaných pacientů označme jako $N = \sum_{i=0}^k n_i$. V této práci budeme všechny uváděné metody používat pro případ, kdy očekáváme větší (kladný) účinek při podání vyšších dávek léku oproti účinku při podání kontrolní dávky. Všechny uvedené metody lze přímočaře upravit pro opačný případ.

Dále uvažujme následující model:

$$Y_{i,j} = f(d_i, \Theta) + \epsilon_{i,j}, \text{ kde } \epsilon_{i,j} \stackrel{\text{i.i.d.}}{\sim} N(0, \sigma^2), \quad (2.1)$$

kde Θ je vektor parametrů modelu, $i = 0, \dots, k$ označuje příslušnou skupinu pacientů a $j = 0, \dots, n_i$ značí pořadí konkrétního pozorování ve skupině i .

Model lze ekvivalentně a bez újmy na obecnosti rozepsat do takzvaného standardizovaného tvaru jako:

$$Y_{i,j} = \theta_0 + \theta_1 f^0(d_i, \Theta^0) + \epsilon_{i,j}, \quad (2.2)$$

kde θ_0 se nazývá parametr pozice a θ_1 se nazývá parametr měřítka, ale samotný tvar modelové funkce již ovlivňuje pouze Θ^0 . V praxi jsou první odhady θ_0 a θ_1 typicky odvozeny z počátečních znalostí nebo na základě expertního odhadu (θ_0 zvolíme například jako průměrnou odezvu pro placebo skupinu). Poté stačí odhadnout pouze parametr Θ^0 .

2.1 Mnohonásobná porovnávání

Při určování vhodných dávek léku se většinou nejprve zkoumá, zda má podání léku nějaký statisticky signifikantní účinek. Pokud ano, hledá se například minimální dávka jejíž účinek je signifikantně odlišný od účinku kontrolní dávky zpravidla o nějakou předem stanovenou hodnotu.

K hodnocení signifikantních rozdílů v účinku různých dávek se používá metoda mnohonásobného porovnávání. Tento přístup spočívá v testování jedné série hypotéz za současné kontroly chyby FWER (familywise error rate), což je pravděpodobnost zamítnutí alespoň jedné pravdivé nulové hypotézy v celé sérii. V tomto případě se dávka bere jako diskrétní veličina.

2.1.1 Testování hypotéz

Nyní se zaměříme na detekci celkové závislosti mezi odpovědí a dávkou. Pro tyto účely nám postačí lineární verze modelu (2.1). Pro větší přehled označme $f(d_i, \Theta) = \mu(d_i) = \mu_i$. Dostáváme tedy lineární model:

$$Y_{i,j} = \mu_i + \epsilon_{i,j}, \text{ kde } \epsilon_{i,j} \stackrel{\text{i.i.d.}}{\sim} N(0, \sigma^2) \quad (2.3)$$

Víme, že pro výběrový průměr \bar{Y}_i platí:

$$\bar{Y}_i \sim N(\mu_i, \sigma^2/n_i), \text{ kde } i = 0, \dots, k. \quad (2.4)$$

Dále necht s^2 označuje konzistentní odhad σ^2 s ν stupni volnosti, který je nezávislý s \bar{Y}_i .

Metody mnohonásobného porovnávání se většinou zaměřují na hledání takzvané minimální detekovatelné dávky, kterou definujeme následovně:

$$\text{MDD}_\Delta = \min\{d_i \in [d_1, d_k] : \mu_i > \mu_0 + \Delta\}, \quad (2.5)$$

kde $\Delta \geq 0$ je předem zvolená pevná hodnota, která vyjadřuje jak rozdílný efekt požadujeme od MDD_Δ oproti efektu kontrolní dávky. Tato hodnota se v praxi stanovuje na základě specifických požadavků a vlastností daného léčiva. V našem případě ale můžeme bez újmy na obecnosti zvolit $\Delta = 0$. Nevýhodou této metody je, že pouze zkoumané dávky mohou být určeny jako MDD.

Nyní můžeme přistoupit k samotnému porovnávání. To spočívá v testování následující série k hypotéz:

$$\begin{aligned} H_0^j &: \mu_0 = \mu_1 = \dots = \mu_j && \text{proti} \\ H_1^j &: \mu_0 = \mu_1 = \dots = \mu_{j-1} < \mu_j, && \text{kde } 1 \leq j \leq k. \end{aligned}$$

Pokud nezamítneme žádnou z hypotéz H_0^j , pak označíme látku jako neaktivní. Pokud je nějaká H_0^j zamítnuta, identifikujeme MDD_0 jako nejmenší dávku d_j , při které se zamítá příslušná hypotéza H_0^j . Jinými slovy MDD_0 je nejmenší dávka, jejíž účinek se signifikantně liší od účinku placebo dávky.

K testování výše uvedené série hypotéz lze použít například kontrastní testy. Konkrétně pro otestování hypotézy H_0^j použijeme kontrast v obecném tvaru $\sum_{i=0}^k c_{j,i} \bar{Y}_i$, jehož koeficienty splňují $\sum_{i=0}^k c_{j,i} = 0$. Příslušná testová statistika je potom definována jako:

$$T_j = \frac{\sum_{i=0}^k c_{j,i} \bar{Y}_i}{s \sqrt{\sum_{i=0}^k c_{j,i}^2 / n_i}}, \text{ kde } 1 \leq j \leq k. \quad (2.6)$$

Nejdůležitější vlastností kontrastních testů je, že statistiky T_j mají sdruženě mnohorozměrné t -rozdělení s ν stupni volnosti a korelační maticí $\rho = (\rho_{i,j})$, viz (2.15).

Dodejme, že existuje několik typů kontrastů, například párové, Helmertovy či lineární. V kapitole 4 budeme používat konkrétně lineární kontrasty. Použitou metodu detailně popisujeme v sekci 2.3.

2.1.2 Kontrola familywise error rate (FWER)

Při použití metody mnohonásobného porovnávání je vhodné kontrolovat chybu FWER. Ta je definována jako:

$$\text{FWER} = P\{\text{alespoň jedna pravdivá } H_0^j \text{ je zamítnuta}, 1 \leq j \leq k\}. \quad (2.7)$$

V literatuře se setkáváme s mnoha způsoby kontroly FWER, které jsou popsány například v knize Hochberg and Tamhane [1987] či ve článku Henning and Westfall [2015].

V našem případě použijeme jeden vybraný postup pro silnou kontrolu FWER, který je popsán v článku Tamhane et al. [1996] a vychází z obecného principu viz Marcus et al. [1976].

Pro dané α budeme požadovat $\text{FWER} < \alpha$.

Nejprve je ale nutné vytvořit uzavřenou množinu/rodinu hypotéz. Toho lze obecně docílit tak, že do této množiny přidáme i všechny průniky původních hypotéz. Ovšem naše množina hypotéz $\{H_0^j, 1 \leq j \leq k\}$ je již uzavřená, neboť $\forall q \in \mathbb{N}$ a $1 < j_1 < j_2 < \dots < j_q < k : H_0^{j_1} \cap H_0^{j_2} \cap \dots \cap H_0^{j_q} = H_0^{j_q}$.

Poté už lze kontrolovat chybu FWER dle Tamhane et al. [1996] tak, že zamítáme hypotézu H_0^j právě tehdy, když pro každé $w \geq j$ zamítáme H_0^w na hladině $1 - \alpha$, tj. $T_w \geq c = t_{1-\alpha}^\nu$, kde $t_{1-\alpha}^\nu$ je $1 - \alpha$ kvantil t -rozdělení s ν stupni volnosti. Poznamenejme, že bychom zde mohli místo t -testu použít i neparametrické či jiné testy na hladině $1 - \alpha$.

Příklad 1. Uvažujme dávky $0 = d_0 < d_1 < d_2 < d_3$ a jejich příslušné účinky $\mu_0, \mu_1, \mu_2, \mu_3$. Metoda mnohonásobného porovnávání je podobná analýze rozptylu jednoduchého třídění (ANOVA) a testuje následující sérii do sebe vnořených hypotéz na pravděpodobnostní hladině $1 - \alpha$:

- $H_0^1 : \mu_0 = \mu_1$ proti $H_1^1 : \mu_0 < \mu_1$
- $H_0^2 : \mu_0 = \mu_1 = \mu_2$ proti $H_1^2 : \mu_0 = \mu_1 < \mu_2$
- $H_0^3 : \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ proti $H_1^3 : \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 < \mu_3$

V alternativách H_0^1, H_0^2, H_0^3 lze znaménko „menší než“ nahradit například nerovností.

V tomto příkladě vlastně testujeme, zda se zvyšuje účinek se zvyšující se dávkou. Pokud nezamítneme žádnou z hypotéz, znamená to, že pro dávky d_1, d_2, d_3 nepozorujeme signifikantně vyšší účinek, než je účinek při kontrolní dávce d_0 , a testovanou látku označíme jako neaktivní.

Řekněme, že zamítneme hypotézu H_0^2 , tj. $T_2 \geq t_{1-\alpha}^\nu$ a předpokládejme navíc, že $\Delta = 0$. V tom případě je účinek dávky d_2 signifikantně vyšší než účinek dávky d_0 a testovanou látku můžeme označit za aktivní. Dále určíme minimální detekovatelnou dávku jako:

$$\text{MDD}_0 = \min\{d_i \in [d_1, d_2, d_3] : \mu_i > \mu_0 + 0\} = d_2.$$

Jelikož $H_0^1 \cap H_0^2 \cap H_0^3 = H_0^3$, zamítáme zároveň i H_0^3 a podle sekce 2.1.2 tedy platí, že $\text{FWER} < \alpha$.

2.2 Modely závislosti odpovědi na dávce

Metoda modelování vychází ze vztahu (2.1), přičemž oproti předchozí metodě uvažujeme dávku d jako spojitou veličinu, tj. $d \in [0, d_{max}]$, kde $d_{max} \in \mathbb{R}$. Modelové funkce $f(d, \Theta)$ se volí různě. Například se na základě předešlých znalostí určí zkoumaná množina kandidátů, viz tabulka 2.1.

Zvolené modely odhadneme na datech a vybereme finální model například na základě AIC či BIC, případě se může použít metoda průměrování více zvolených modelů. Poté je možno flexibilně odhadovat příslušnou dávku odpovídající požadovanému účinku nebo také dávku při které jsou konkrétně omezeny nežádoucí účinky.

V této sekci vycházíme z O'Quigley et al. [2017] a Bornkamp et al. [2009].

Odhadování parametrů modelu

Parametr Θ uvažovaného modelu se odhaduje typicky pomocí metody nejmenších čtverců, tj. minimalizace součtu čtverců

$$\sum_{i=0}^k \sum_{j=1}^{n_i} |Y_{i,j} - f(d_i, \Theta)|^2. \quad (2.8)$$

V případě nelineárních modelů se použije algoritmus nelineárních nejmenších čtverců. Například Gaussův-Newtonův iterativní postup, který vyžaduje počáteční hodnoty parametrů.

Odhadování dávky

Když máme výsledný model odhadnutý na příslušných datech, můžeme postoupit k odhadování dávky léku. Modelovací metody se většinou zaměřují na odhad dvou odlišných dávek: MED_{Δ} (minimální efektivní dávka) a ED_p , což je nejmenší dávka, jejíž efekt odpovídá $p\%$ efektu z maximálního efektu dosaženého v celém rozsahu všech dávek léku, definované jako:

$$MED_{\Delta} = \min\{d_i \in [d_1, d_k] : f(d_i, \Theta) > f(d_0, \Theta) + \Delta\}, \quad (2.9)$$

$$ED_p = \min \left\{ d_i \in [d_1, d_k] : f(d_i, \Theta) > f(d_0, \Theta) + \frac{p}{100} \delta_{max} \right\}, \quad (2.10)$$

kde $\Delta \geq 0$, $p \in [0, 100)$ a $\delta_{max} = \max_{d_j \in [d_1, d_k]} \{f(d_j, \Theta)\} - f(d_0, \Theta)$. Podobně jako u MDD budeme bez újmy na obecnosti uvažovat $\Delta = 0$, pokud nebude stanoveno jinak.

MED_{Δ} můžeme odhadnout několika různými způsoby, pro představu uvedeme jeden příklad:

$$\widehat{MED}_{\Delta} = \min\{d_i \in [d_1, d_k] : \hat{f}(d_i, \Theta) \geq \hat{f}(d_0, \Theta) + \Delta, L_{d_i} > \hat{f}(d_0, \Theta)\}, \quad (2.11)$$

kde $\hat{f}(d_i, \Theta)$ je odhad střední hodnoty odpovědi při dávce d_i a L_{d_i} je příslušný dolní interval spolehlivosti na hladině $1 - 2\delta$.

Dávku ED_p můžeme odhadnout jednoduše aplikací odhadu $\hat{\Theta}$ parametru Θ v definici (2.10).

2.3 Metoda MCP-Mod

Oba výše zmíněné přístupy lze ale také v několika krocích kombinovat pomocí metody MCP-Mod. Tím můžeme zachovat jak flexibilitu v odhadech dávek tak robustnost vůči nevhodně zvolenému modelu. Čerpáme zde především z O'Quigley et al. [2017], Bretz et al. [2005] a Bornkamp et al. [2009].

V této sekci budeme vycházet ze vztahu (2.2). Od předpokladu normality se dá upustit a využít například obecných parametrických modelů popsanych v Pinheiro et al. [2014].

Uvažujme množinu několika modelových funkcí $f(d, \Theta)$ - kandidátů, které vhodně pokrývají možné tvary křivek závislosti odpovědi na dávce. Tato množina se typicky určuje na základě různých faktorů konkrétní studie.

V tabulce 2.1 se můžeme seznámit s několika nejpoužívanějšími modelovými funkcemi. Zde čerpáme z Bretz et al. [2005] a uvádíme jejich tvary pro případ, kdy očekáváme, že účinek bude pro vyšší dávky větší než pro kontrolní dávku. Tyto funkce se dají přímočaře upravit pro opačný případ, a to změnou podmínek pro příslušné parametry.

Připomeňme, že pro všechny modely platí $d \in [0, d_{max}]$, kde $d_{max} \in \mathbb{R}$. Na obrázku 2.1 vidíme ukázkové tvary křivek modelů z tabulky 2.1. O uvedených modelech budeme hovořit jako o množině kandidátů, přičemž tuto množinu budeme značit M . V praxi se jako nejvhodnější modely jeví ty, jejichž odezva se i při zvětšení rozsahu dávky pohybuje mezi horní a dolní asymptotou. Dále se také ukazuje, že pro účely testování je zmíněná množina modelů dostatečná.

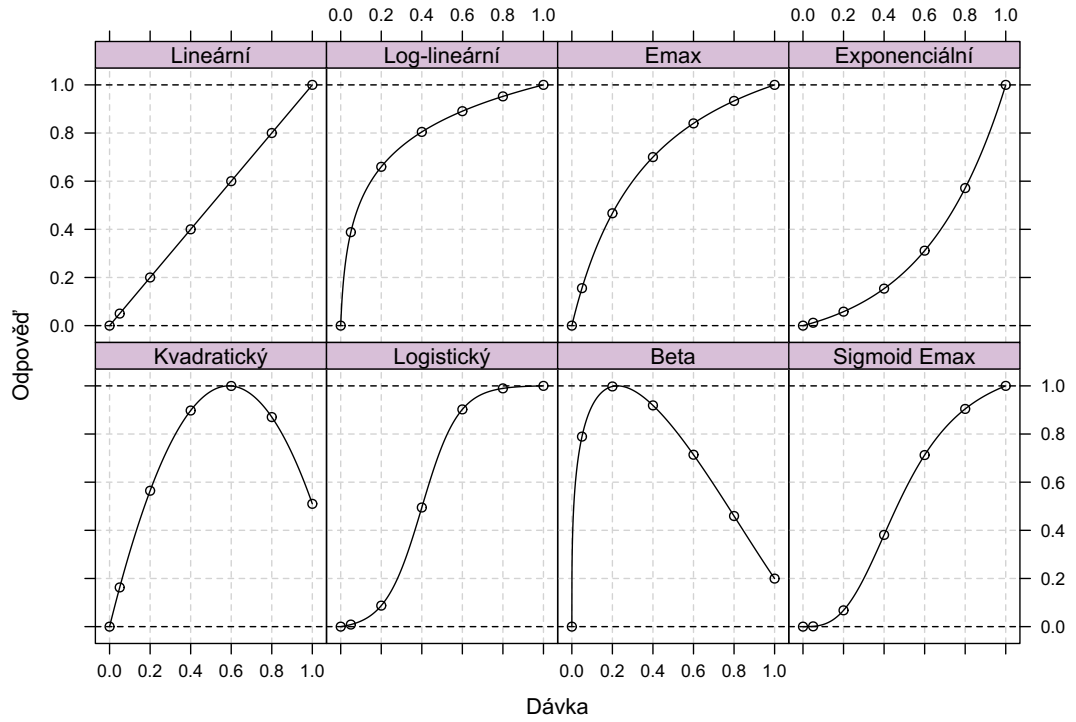
Obecné předpoklady a značení

- E_0 je parametr, který odpovídá hodnotě odezvy (efektu) pro placebo dávku.
- E_{max} je parametr, který odpovídá maximální hodnotě odezvy přes celou škálu dávek. Uvažujeme $E_{max} > 0$.
- E_1 je parametr škály specifický pro exponenciální model.
- Speciálně pro Beta model platí $D \geq d_{max}$, kde D je fixní parametr a $B(\alpha, \beta) = (\alpha + \beta)^{\alpha + \beta} / (\alpha^\alpha \beta^\beta)$.

Tabulka 2.1: Tabulka modelů

Model	$f(d, \Theta)$	$f^0(d, \Theta^0)$	Předpoklady
Lineární	$E_0 + \lambda d$	d	$\lambda \geq 0$
Log-lineární	$E_0 + \lambda \log(d + 1)$	$\log(d + 1)$	$\lambda \geq 0$
E _{max}	$E_0 + E_{max} \frac{d}{ED_{50} + d}$	$\frac{d}{ED_{50} + d}$	$ED_{50} > 0$
Sigmoid E _{max}	$E_0 + E_{max} \frac{d^h}{ED_{50}^h + d^h}$	$\frac{d^h}{ED_{50}^h + d^h}$	$ED_{50} > 0$
Exponenciální	$E_0 + E_1 \exp(\frac{d}{\gamma})$	$\exp(\frac{d}{\gamma})$	$\gamma > 0$
Kvadratický	$E_0 + \beta_1 d + \beta_2 d^2$	$d + \frac{\beta_2}{ \beta_1 } d^2$	$\beta_2 < 0$
Logistický	$E_0 + \frac{E_{max}}{1 + \exp(\frac{ED_{50} - d}{\gamma})}$	$\frac{1}{1 + \exp(\frac{ED_{50} - d}{\gamma})}$	$\gamma > 0$
Beta	$E_0 + E_{max} B(\alpha, \beta) (\frac{d}{D})^\alpha (1 - \frac{d}{D})^\beta$	$(\frac{d}{D})^\alpha (1 - \frac{d}{D})^\beta$	$\alpha, \beta > 0$

Obrázek 2.1: Tvary modelových křivek



V prvním kroku je každý model z množiny kandidátů testován metodou mnohonásobného porovnávání, která kontroluje FWER. Zde se soustředíme na detekci existence vztahu mezi dávkou a odpovědí. K tomu se používají například vhodně zvolené kontrastní testy, viz podkapitola 2.1. My budeme konkrétně používat lineární kontrasty.

Nejprve budeme pro každý uvažovaný model potřebovat odhad μ_m^0 vektoru odpovědí $\mu_m = (\mu_{m_1}, \dots, \mu_{m_k})$. Ten lze získat například pomocí expertního stanovení prvotního odhadu parametru Θ^0 na základě znalostí o očekávané odpovědi pro danou dávku. Stanovení prvotních odhadů je důležité právě pro mnohonásobné porovnávání a v dalším kroku je parametr znovu odhadnut na základě dat.

V praxi se provádí analýzy citlivosti na změnu prvotních odhadů nebo analýzy síly detekce celkového trendu, viz Pinheiro et al. [2006].

Další metodou odhadu $\boldsymbol{\mu}_m$, která ovšem nevyžaduje prvotní odhady parametrů je test poměrem věrohodnosti dle Gutjahr and Bornkamp [2015].

Uvažujme tedy, že pro každý model $m = 1, \dots, M$ již známe vektor odhadnutých odpovědí $\boldsymbol{\mu}_m^0$. Jeho členy $\mu_{m_i}^0$ závisí na velikosti příslušné dávky d_i a také parametru Θ^0 daného modelu.

Nyní přistoupíme k samotnému testování. Pro každý model m z množiny kandidátů provedeme test pomocí lineárního kontrastu.

Budeme testovat hypotézu:

$$\begin{aligned} H_0^m &: \mathbf{c}_m^T \boldsymbol{\mu}_m = 0 \text{ proti alternativě} \\ H_1^m &: \mathbf{c}_m^T \boldsymbol{\mu}_m > 0, \end{aligned}$$

kde $\mathbf{c}_m = (c_{m,0}, \dots, c_{m,k})^T$ je vektor koeficientů kontrastu a platí $\sum_{i=0}^k c_{m,i} = 0$. Nulová hypotéza H_0^m vlastně říká, že pro model m neexistuje vztah mezi odpovědí a dávkou, tedy $\mu_{m,0} = \dots = \mu_{m,k}$.

Optimální koeficienty kontrastu, které maximalizují sílu detekce správného vztahu lze dle Bornkamp [2006] nalézt jako:

$$c_{m,i} = n_i(\mu_{m,i}^0 - \bar{\mu}_m^0), \text{ pro } i = 0, \dots, k, \quad (2.12)$$

kde $\bar{\mu}_m^0 = \sum_{i=0}^k \frac{n_i \mu_{m,i}^0}{N}$. Jednoznačné řešení (2.12) je $\frac{\mathbf{c}_m}{\|\mathbf{c}_m\|}$, kde $\|\mathbf{c}_m\| = \sqrt{\sum_{i=0}^k c_{m,i}^2}$.

Potom každý model z množiny kandidátů může být reprezentován optimálním kontrastem \mathbf{c}_m a jelikož jsou testy kontrastu invariantní vůči posunutí a škálování [Bretz et al., 2005], stačí pracovat se standardizovanou verzí modelů. Testovou statistiku konkrétního kontrastního testu lze zapsat jako:

$$T_m = \frac{\sum_{i=0}^k c_{m,i} \bar{Y}_i}{S \sqrt{\sum_{i=0}^k c_{m,i}^2 / n_i}}, \text{ pro } m = 1, \dots, M, \quad (2.13)$$

kde \bar{Y}_i je výběrový průměr odpovědí pozorovaných při dávce d_i a

$$S^2 = \frac{\sum_{i=0}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{i,j} - \bar{Y}_i)^2}{N - k - 1}. \quad (2.14)$$

Za předpokladu platnosti modelu (2.2) a za platnosti nulové hypotézy mají testové statistiky T_1, \dots, T_m sdruženě mnohorozměrné t -rozdělení s $N - k - 1$ stupni volnosti a s korelační maticí $\rho = (\varrho_{i,j})$, kde

$$\varrho_{i,j} = \frac{\sum_{l=0}^k c_{i,l} c_{j,l} / n_l}{\sqrt{\sum_{l=0}^k c_{i,l}^2 / n_l \sum_{l=0}^k c_{j,l}^2 / n_l}}. \quad (2.15)$$

Výslednou testovou statistiku dostaneme jako:

$$T_{max} = \max_{m \in [1, M]} T_m \quad (2.16)$$

a budeme ji porovnávat s kritickou hodnotou $q_{1-\alpha}$, kterou získáme některou metodou pro mnohonásobná porovnávání, například Bonferroniho. Tímto kontrolujeme chybu prvního typu. Pokud platí, že $T_{max} \geq q_{1-\alpha}$ říkáme, že existuje vztah

mezi odpovědí a dávkou. Podobně všechny modely, které mají příslušnou testovou statistiku větší než $q_{1-\alpha}$, označíme jako statisticky signifikantní modely na hladině spolehlivosti $1 - \alpha$. Nechtě je takových modelů právě L .

Pokud je $L = 0$ pak procedura MCP-Mod vyhodnotí, že neexistuje vztah mezi odpovědí a dávkou u příslušné látky. My takovouto látku vyhodnotíme jako neaktivní. To ovšem neznamená, že podání léku nemá vůbec žádný efekt.

Pokud je $L > 0$, odhadneme všechny signifikantní modely na našich datech například pomocí (zobecněné) metody nejmenších čtverců popsané v podkapitole 2.2, metody maximální věrohodnosti či jiné iterativní optimalizační techniky pro nelineární modely. Poté z nich můžeme vybrat jeden finální model, například ten s největší testovou statistikou nebo na základě kritérií AIC či BIC. Případně můžeme vybrat více modelů a aplikovat přístup průměrování popsaný v Schorning et al. [2016]. V praxi se nejčastěji používá metoda průměrování s aplikací různých vah.

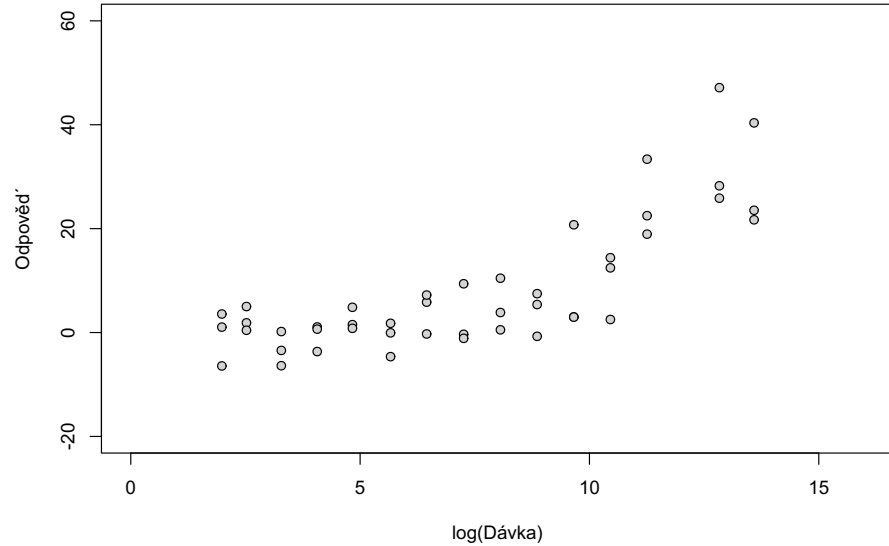
Na základě vybraného finálního modelu nakonec odhadujeme vhodnou dávku léku. Poznamenejme, že v současné době není publikována žádná metoda pro stanovení intervalu spolehlivosti pro výslednou dávku určenou pomocí procedury MCP-Mod.

Pro všechny výpočty dle metody MCP-Mod budeme používat balíček programu R, viz Bornkamp et al. [2009].

Příklad 2. Pozorujme snížení mitochondriálního membránového potenciálu (odpověď) živných buněk $Y_{i,j}$, pro $i = 1, \dots, 15$ a $j = 1, 2, 3$ při aplikaci potenciálně toxické látky číslo 144204663 v dávkách d_1, \dots, d_{15} . Pro každou dávku máme tedy k dispozici tři pozorování, kde kladná hodnota odpovědi znamená snížení potenciálu buněk (zjednodušeně úmrtnost). Více detailů o použitých datech lze nalézt v kapitole 4.

Graf 2.2 zachycuje chování buněk při podání vybrané látky. Vidíme, že při dostatečně velké dávce se začne zvyšovat odpověď.

Obrázek 2.2: Pozorované odpovědi buněk při různých dávkách látky č. 144204663



Nyní aplikujme metodu MCP-Mod abychom určili, zda je daná látka skutečně toxická (aktivní) a také minimální efektivní dávku. MED bude v tomto případě odpovídat minimální dávce, při které se signifikantně zvýší úmrtnost živných buněk oproti kontrolní dávce. Zde předpokládáme, že kontrolní dávka d_0 nemá žádný účinek, tj. pozorujeme pro ni $Y_{0,j} = 0$, pro $j = 1, 2, 3$.

V prvním kroku určíme pomocí metody mnohonásobného porovnávání, které modely z množiny kandidátů (tabulka 2.1) jsou statisticky signifikantní. V tabulce 2.2 uvádíme všechny zkoumané modely a jejich prvotní odhady parametru Θ^0 .

Tabulka 2.2: Testované modely a prvotní odhady Θ^0

Model	Prvotní odhady parametru Θ^0
Lineární	—
Log-lineární	—
E _{max}	5
Sigmoid E _{max}	{10; 15}
Exponenciální	1
Kvadratický	-0,1
Logistický	{1; 0,2}
Beta	{0,1; 0,5}

V tabulce 2.3 vidíme výsledné kontrasty příslušné vybraným modelům a v tabulce 2.4 nalezneme také testové statistiky, p -hodnoty a hodnotu AIC. Vidíme, že na hladině $1 - \alpha = 0,95$ je šest z osmi modelů signifikantních. Látku tedy můžeme označit za aktivní.

Tabulka 2.3: Výsledné kontrasty pro vybrané testované modely

Dávka	Kontrasty příslušných modelů		
	Log-lineární	Sigmoid Emax	Logistický
d_1	-0,521	-0,183	-0,964
d_2	-0,417	-0,183	0,002
d_3	-0,301	-0,183	0,072
d_4	-0,206	-0,183	0,074
d_5	-0,128	-0,183	0,074
d_6	-0,057	-0,183	0,074
d_7	0,002	-0,182	0,074
d_8	0,056	-0,177	0,074
d_9	0,103	-0,157	0,074
d_{10}	0,146	-0,088	0,074
d_{11}	0,186	0,070	0,074
d_{12}	0,222	0,266	0,074
d_{13}	0,256	0,397	0,074
d_{14}	0,316	0,480	0,074
d_{15}	0,342	0,489	0,074

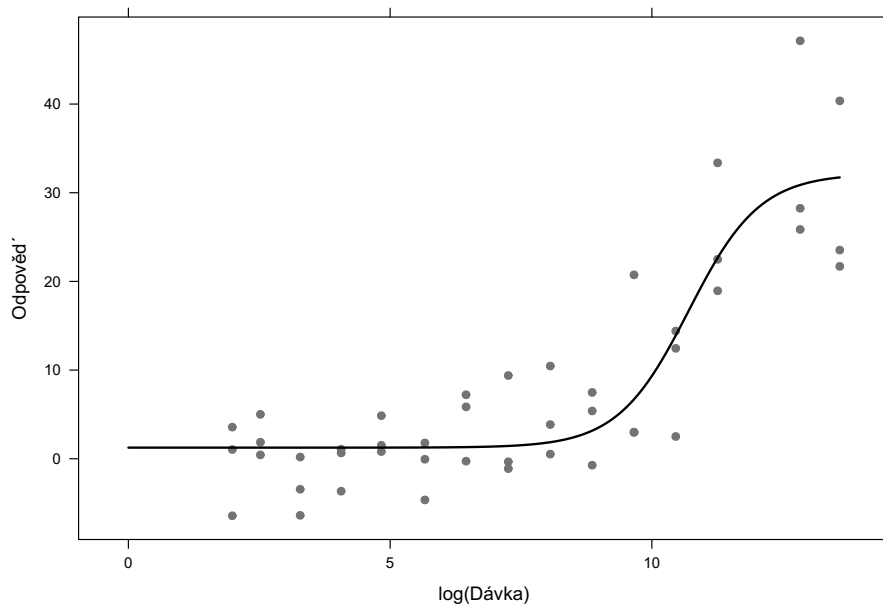
Tabulka 2.4: Testové statistiky a p -hodnoty

Model	Testová statistika	p -hodnota	AIC
Lineární	10,164	< 0,001	316,781
Log-lineární	8,753	< 0,001	332,246
Emax	8,582	< 0,001	320,623
Sigmoid Emax	11,194	< 0,001	297,020
Exponenciální	9,095	< 0,001	301,382
Kvadratický	-11,152	> 0,999	299,503
Logistický	2,577	0,034	295,777
Beta	-11,101	> 0,999	300,635

Ze signifikantních modelů vybereme ten s nejnižší hodnotou AIC, což je logistický model a poté jej odhadneme na datech. Výslednou křivku zachycuje obrázek 2.3.

Na základě takto odhadnutého modelu již můžeme flexibilně odhadovat MED_{Δ} . Například pro $\Delta = 12$ (odpovídá dávce s přibližně 25% toxicitou z maximální pozorované odpovědi) dostaneme po logaritmické transformaci odpovídající dávku $\log(\widehat{MED}_{12}) \doteq 10,396$. Metoda MCP-Mod ovšem není navržena k sestrojení intervalu spolehlivosti pro MED_{Δ} .

Obrázek 2.3: Odhad logistického modelu pro látku č. 144204663



2.4 Shrnutí a porovnání

Přístup mnohonásobného porovnávání je obecně robustní, ale statistické výsledky jsou omezeny pouze na množinu zkoumaných dávek.

Zatímco za předpokladu funkčního vztahu mezi dávkou a odpovědí máme v tomto ohledu větší flexibilitu, ale na druhou stranu velmi závisí na správně zvoleném modelu.

Jinými slovy má metoda MCP-Mod ve srovnání s metodou mnohonásobného porovnávání výhodu snadnějšího a flexibilního zkoumání rozsahu dávek bez potřeby přílišného navyšování pozorovaných pacientů. Metoda mnohonásobného porovnávání totiž používá informace pouze z několika předem stanovených dávek, což znamená že potřebný počet pozorování (při pevně dané přesnosti) značně závisí na správném zvolení těchto dávek. Modelovací techniky nám umožní rozšířit vztah mezi odpovědí a dávkou i mezi konkrétní dávky a potřebný počet pozorování bude méně záležet na zvolených dávkách (při stejné, pevně dané přesnosti). V tomto smyslu metoda MCP-Mod lépe využívá informace z dostupných dat a není tolik restriktivní na vstupní data.

3. Modely postupné změny

V ekologii, meteorologii či medicíně se běžně setkáváme s jevem, kdy pozorovaná proměnná začne postupně měnit svoje chování. Často tato změna přichází ve známém či neznámém bodě, například po uplynutí určitého času či zvýšení koncentrace nějaké látky. Tento bod se nazývá bodem změny. Poté nastává pokles nebo růst pozorované proměnné.

V této kapitole představíme teorii zabývající se modely postupné změny. Vycházíme především z článků Hušková [1998] a Jarušková [1997, 1998, 2001].

3.1 Detekce změny

Nejprve zavedeme jednotné značení a předpoklady, poté v sekci 3.1.1 uvedeme postup detekce změny a jeho použití na příkladu. V podkapitole 3.2 se následně budeme zabývat odhadem a vlastnostmi bodu změny a dalších parametrů včetně dávky MED.

V kapitole 4 poté tuto metodologii aplikujeme na reálná data. Další možností, kterou se v této práci ale nebudeme zabývat, by byla aplikace modelů náhlé změny, které popisuje například kniha Csörgö and Horváth [1997].

Značení

Uvažujme model s postupnou změnou odezvy po dosažení předem neznámého bodu m definovaný následovně:

$$Y_i = \mu + b \left(\frac{i - m}{n} \right)_+ + \epsilon_i, \text{ kde } i = 1, \dots, n, \quad (3.1)$$

$x_+ = \max\{x, 0\}$, $\mu, b \neq 0$ a m jsou parametry a jsou splněny následující předpoklady, kde se omezujeme pouze na případ, kdy $b > 0$ (lze analogicky rozšířit):

(P1) $\mu \in \mathbb{R}$, $b \in \mathbb{R}^+$ a $m \in \{1, \dots, n\}$.

(P2) Residua $\epsilon_1, \dots, \epsilon_n$ jsou nezávislá, stejně rozdělená s $E \epsilon_i = 0$, $\text{var } \epsilon_i = \sigma^2$ a platí $E |\epsilon_i|^{2+\omega} < \infty$ pro $i = 1, \dots, n$ a nějaké $\omega > 0$.

Ještě upřesníme, že v případě asymptotických vlastností odhadů parametrů modelu (3.1), především v kapitole 3.2.2, pracujeme s předpokladem, že $b_n = b \neq 0$, pro $n \rightarrow \infty$. Tento přístup je vhodný především s ohledem na charakter dat použitých k analýze v kapitole 4. Analogické vlastnosti pro tyto odhady lze odvodit i pro případ, kdy $b_n \rightarrow 0$, pro $n \rightarrow \infty$, viz Hušková [1998].

Dále budeme značit:

$$x_{i,j} = \left(\frac{i - j}{n} \right)_+ \\ \bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{i,j}$$

Zaměříme se především na odhady parametrů m, μ, b, σ^2 a jejich vlastnosti.

Nejprve ale stručně popíšeme postup testování, kterým budeme detekovat, zda vůbec nějaká změna nastala.

3.1.1 Testování

V této sekci se budeme zabývat detekcí signifikantní změny v modelu (3.1), která nastává v neznámém bodě m a poté má odezva lineární trend. Jinými slovy budeme testovat zda je profil odezvy konstantní, t.j. zda $m = n$ proti $m < n$. Formálně tedy testujeme:

$$H_0 : Y_i = \mu + \epsilon_i, \quad \text{pro } i = 1, \dots, n, \text{ proti} \quad (3.2)$$

$$H_1 : \exists m \in \{1, \dots, n-1\} \quad \text{tak, že} \quad (3.3)$$

$$Y_i = \mu + \epsilon_i, \quad \text{pro } i = 1, \dots, m$$

$$Y_i = \mu + b \left(\frac{i-m}{n} \right)_+ + \epsilon_i, \quad \text{pro } i = m+1, \dots, n$$

Zamítneme-li hypotézu H_0 (3.2), označíme látku jako aktivní (podobně jako v kapitole 2). Nezamítneme-li hypotézu H_0 (3.2), vyhodnotíme, že neexistuje vztah mezi odpovědí a dávkou u příslušné látky. My tedy takovou látku označíme jako neaktivní.

Nyní uvedeme příslušné testové statistiky a jejich vlastnosti (asymptotické rozdělení a kritické obory) pro případ, kdy předpokládáme, že parametr $b > 0$. Vše lze včetně analogických poznatků pro $b < 0$ či $b \neq 0$ nalézt v článku Jarušková [1998].

Navíc budeme rozlišovat případy, kdy předem známe či neznáme parametry μ a σ^2 .

Známe parametry μ, σ^2

V případě, že známe parametry μ, σ^2 modelu (3.1), můžeme bez újmy na obecnosti uvažovat, že $\mu = 0$ a $\sigma^2 = 1$.

Testovou statistiku v tomto případě zvolíme jako:

$$S_1 = \max_{0 \leq k \leq n-1} t_k, \quad \text{kde} \quad (3.4)$$

$$t_k = \frac{\sum_{i=k+1}^n Y_i(i-k)}{\sqrt{(n-k)(n-k+1)(2n-2k+1)/6}}. \quad (3.5)$$

Známe parametr μ a neznáme σ^2

V případě, že v modelu (3.1) známe parametr μ a neznáme σ^2 , můžeme bez újmy na obecnosti předpokládat, že $\mu = 0$ a také můžeme zvolit dva přístupy, přičemž použijeme vztah (3.5):

a) Odhadneme $\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Y_i^2$ a použijeme testovou statistiku $S_{2a} = \max_{0 \leq k \leq n-1} \frac{t_k}{\hat{\sigma}}$

b) Použijeme testovou statistiku $S_{2b} = \max_{0 \leq k \leq n-1} \frac{t_k}{\hat{\sigma}_k}$, kde

$$\hat{\sigma}_k = \sqrt{\left(\sum_{i=1}^n Y_i^2 - t_k^2 \right) / (n-1)}$$

Neznáme parametr μ , známe σ^2

V případě, že v modelu (3.1) neznáme parametr μ , ale známe σ^2 , můžeme bez újmy na obecnosti předpokládat, že $\sigma^2 = 1$. Testovou statistiku zvolíme následovně:

$$S_3 = \max_{0 \leq k \leq n-1} T_k, \text{ kde} \quad (3.6)$$

$$T_k = \frac{\sum_{i=k+1}^n (Y_i - \bar{Y})(i - k)}{\sqrt{(n-k)(n-k+1)(2n-2k+1)/6 - (n-k)^2(n-k+1)^2/4n}} \quad (3.7)$$

a $\bar{Y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Y_i$.

Neznáme parametr μ a neznáme σ^2

V případě, že neznáme parametry μ a σ^2 modelu (3.1), můžeme zvolit opět dva přístupy za použití rovnosti (3.7):

a) Odhadneme $\hat{\sigma}^2 = \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 / (n-1)$ a použijeme testovou statistiku

$$S_{4a} = \max_{0 \leq k \leq n-1} \frac{T_k}{\hat{\sigma}}$$

b) Použijeme testovou statistiku $S_{4b} = \max_{0 \leq k \leq n-1} \frac{T_k}{\hat{\sigma}_k}$, kde

$$\hat{\sigma}_k = \sqrt{\left(\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 - T_k^2 \right) / (n-2)}$$

3.1.2 Asymptotické vlastnosti a kritické hodnoty

V této podkapitole uvedeme věty týkající se asymptotických vlastností a kritických hodnot pro výše uvedené testové statistiky. Vycházíme z Jarušková [1998].

Věta 1. Necht jsou náhodné veličiny Y_1, \dots, Y_n nezávislé, stejně rozdělené a platí $E Y_i = 0$, $\text{var}(Y_i) = 1$ a $E |Y_i|^{2+\omega} < \infty$ pro $i = 1, \dots, n$ a nějaké $\omega > 0$. Dále definujeme:

$$u_n = \sqrt{2 \ln \ln n} + \frac{1}{\sqrt{2 \ln \ln n}} \left(\ln \frac{\sqrt{3}}{4\pi} + x \right), x \in \mathbb{R}. \quad (3.8)$$

Potom platí

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P(S_1 > u_n) = 1 - \exp(-e^{-x}), \quad (3.9)$$

Důkaz. Viz Jarušková [1998], Theorem 1. □

Věta 2. Necht platí stejné předpoklady a značení jako ve větě 1 s tím rozdílem, že $\text{var}(Y_i) = \sigma^2$ a navíc:

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Y_i^2,$$

$$\hat{\sigma}_k = \sqrt{\left(\sum_{i=1}^n Y_i^2 - t_k^2 \right) / (n-1)}.$$

Potom platí:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P(S_{2a} > u_n) = 1 - \exp(-e^{-x}), \quad (3.10)$$

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P(S_{2b} > u_n) = 1 - \exp(-e^{-x}), \quad (3.11)$$

Důkaz. Viz Jarušková [1998], Remark 2. \square

Věta 3. Necht jsou náhodné veličiny Y_1, \dots, Y_n nezávislé, stejně rozdělené a platí $EY_i = \mu$, $\text{var}(Y_i) = 1$ a $E|Y_i|^{2+\omega} < \infty$ pro $i = 1, \dots, n$ a nějaké $\omega > 0$. Dále definujme u_n jako v (3.8). Potom platí:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P(S_3 > u_n) = 1 - \exp(-e^{-x}), \quad (3.12)$$

Důkaz. Viz Jarušková [1998], Theorem 2. \square

Věta 4. Necht platí stejné předpoklady a značení jako ve větě 3 s tím rozdílem, že $\text{var}(Y_i) = \sigma^2$ a navíc:

$$\hat{\sigma}^2 = \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 / (n - 1),$$

$$\hat{\sigma}_k = \sqrt{\left(\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 - T_k^2 \right) / (n - 2)}.$$

Potom platí:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P(S_{4a} > u_n) = 1 - \exp(-e^{-x}). \quad (3.13)$$

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P(S_{4b} > u_n) = 1 - \exp(-e^{-x}). \quad (3.14)$$

Důkaz. Viz Jarušková [1998], Remark 3. \square

Kritický obor

Pro vyhodnocení hypotézy (3.2) stanovíme kritickou hodnotu u_n^α na základě výše uvedených vět. Hypotézu budeme zamítat na hladině $1 - \alpha$, když příslušná testová statistika bude větší než kritická hodnota u_n^α .

Tu vypočteme tak, aby platilo:

$$\alpha = 1 - \exp(-e^{-x}).$$

Například pro $n = 15$ dostaneme $u_{15}^{0,05} \doteq 2,112$ a pro $n = 100$ vyjde $u_{100}^{0,05} \doteq 2,313$.

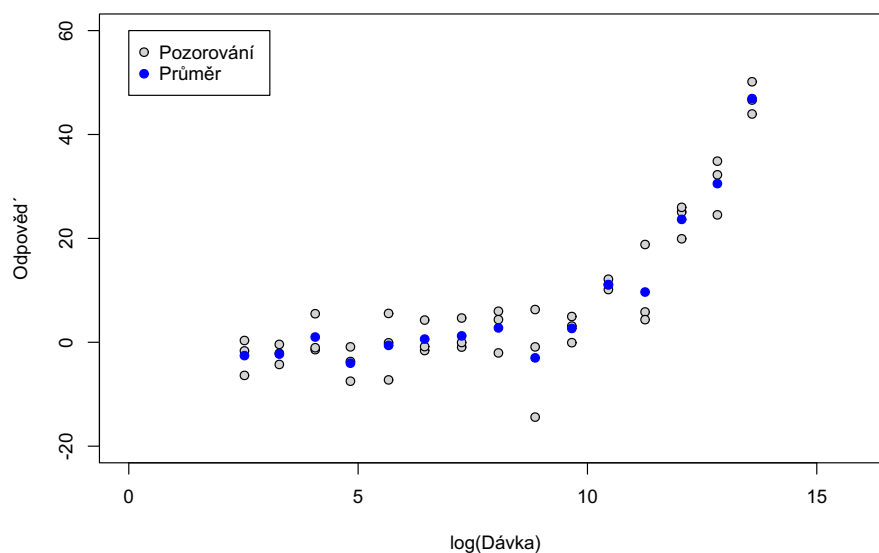
Hodnotu u_n^α lze také určit na základě simulací, viz Jarušková [1998].

Nyní uvedeme příklad, kde testujeme hypotézu (3.2) pomocí různých testových statistik u jedné aktivní a jedné neaktivní látky.

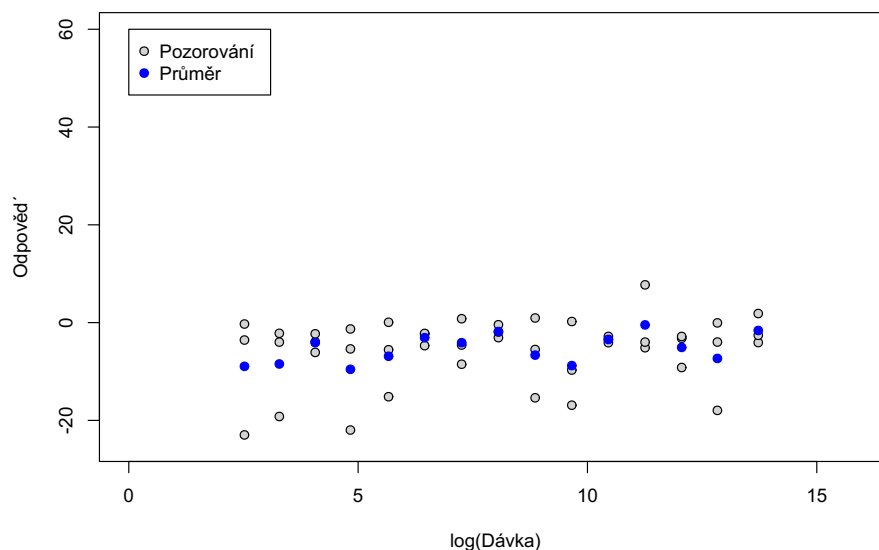
3.1.3 Příklad detekce změny

Příklad 3. Pozorujme úmrtnost (odpověď) živných buněk Y_i , pro $i = 1, \dots, 15$ při aplikaci dávek d_1, \dots, d_{15} dvou potenciálně toxických látek číslo 144211155 a 144208063 podobně jako v příkladu 2. Pro každou dávku máme k dispozici tři pozorování, ze kterých vytvoříme jednu výslednou odpověď jako průměr ze třech původních pozorování. Detailní popis použitých dat lze nalézt v kapitole 4. Následující obrázky 3.1 a 3.2 zachycují chování buněk při podání příslušné látky. Vidíme, že v prvním případě se při dostatečně velké dávce začne zvyšovat úmrtnost buněk. Ve druhém případě takový jev nepozorujeme.

Obrázek 3.1: Pozorované odpovědi buněk při různých dávkách látky č. 144211155



Obrázek 3.2: Pozorované odpovědi buněk při různých dávkách látky č. 144208063



Nejprve předpokládejme, že $\mu = 0$ a parametr σ^2 je neznámý. Budeme testovat hypotézu (3.2) proti alternativě (3.3) pro $b > 0$ a $n = 15$ na hladině významnosti $1 - \alpha = 0,95$. Tabulka 3.1 shrnuje naše výsledky.

Tabulka 3.1: Testové statistiky a vyhodnocení testů

Látka	Testová statistika		Kritická h.	Vyhodnocení	
	S_{2a}	S_{2b}	u_{15}^α	H_0	Aktivita
144211155	3,80	18,96	2,11	Zamítáme	Aktivní
144208063	-0,27	-0,26	2,11	Nezamítáme	Neaktivní

Pokud předpokládáme, že parametry μ i σ^2 jsou neznámé a opět budeme testovat hypotézu (3.2) proti alternativě (3.3) pro $b > 0$ a $n = 15$ na hladině 0,95, dostaneme následující výsledky shrnuté v tabulce 3.2.

Tabulka 3.2: Testové statistiky a vyhodnocení testů

Látka	Testová statistika		Kritická h.	Vyhodnocení	
	S_{4a}	S_{4b}	u_{15}^α	H_0	Aktivita
144211155	3,65	16,18	2,11	Zamítáme	Aktivní
144208063	1,74	1,89	2,11	Nezamítáme	Neaktivní

V obou případech jsme vždy vyhodnotili látku s číslem 144211155 jako aktivní a látku 144208063 jako neaktivní, což je v souladu s výsledky programu U.S. Tox21.

3.2 Modelování: Lineární model postupné změny

Pokud pomocí metody popsané v předchozí části 3.1.1 potvrdíme existenci signifikantní změny v modelu (3.1), přistoupíme k odhadu všech jeho parametrů. V této podkapitole vycházíme z článku Hušková [1998] a používáme značení z podkapitoly 3.1.

3.2.1 Odhad lineárního modelu postupné změny

Odhady parametrů μ, b, m v modelu (3.1) můžeme získat například pomocí metody nejmenších čtverců jako řešení $\hat{\mu}_n, \hat{b}_n, \hat{m}$ minimalizační úlohy:

$$\min_{\mu \in \mathbb{R}, b \in \mathbb{R}^+, m \in [1, n]} \sum_{i=1}^n (Y_i - \mu - b \cdot x_{i,m})^2. \quad (3.15)$$

Řešení $\hat{\mu}_n$ a \hat{b}_n úlohy (3.15) dostaneme jako:

$$\hat{b}_n = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{i,\hat{m}} - \bar{x}_{\hat{m}}) Y_i}{\sum_{i=1}^n (x_{i,\hat{m}} - \bar{x}_{\hat{m}})^2}, \quad (3.16)$$

$$\hat{\mu}_n = \bar{Y} - \hat{b}_n \cdot \bar{x}_{\hat{m}}. \quad (3.17)$$

Odhad \hat{m} lze vyjádřit jako řešení maximalizační úlohy:

$$\max_{m \in [1, n]} f_m(m) = \max_{m \in [1, n]} \frac{\{\sum_{i=1}^n (x_{i,m} - \bar{x}_m) Y_i\}^2}{\sum_{i=1}^n (x_{i,m} - \bar{x}_m)^2}. \quad (3.18)$$

Příčemž σ^2 odhadujeme jako:

$$\hat{\sigma}_n^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{\mu}_n - \hat{b}_n x_{i,\hat{m}})^2. \quad (3.19)$$

Poznámka. Při předpokladu normálního rozdělení Y_i odpovídají výše uvedené odhady odhadům pomocí maximální věrohodnosti.

Poznámka. Pro přesnější výsledky určujeme odhad \hat{m} jako řešení maximalizační úlohy (3.18) přes $m \in [1, n]$.

Pro předem zvolené Δ nakonec odhadneme dávku MED_Δ jako $\widehat{\text{MED}}_\Delta$, kde:

$$\Delta = \hat{\mu}_n + \hat{b}_n \left(\frac{\widehat{\text{MED}}_\Delta - \hat{m}}{n} \right), \text{ a tedy} \quad (3.20)$$

$$\widehat{\text{MED}}_\Delta = \hat{m} + \frac{n}{\hat{b}_n} (\Delta - \hat{\mu}_n) \quad (3.21)$$

3.2.2 Asymptotické vlastnosti odhadů parametrů lineárního modelu postupné změny

Věta 5. Necht jsou náhodné veličiny Y_1, \dots, Y_n nezávislé a splňují vztah (3.1) včetně příslušných předpokladů (P1) a (P2). Pokud pro $n \rightarrow \infty$ navíc platí:

$$b = O(1), \quad \frac{b^2 n}{(\log \log n)^2} \rightarrow \infty \text{ a } m = [n\theta], \quad (3.22)$$

pro nějaké $\theta \in (0, 1)$.

Potom pro $n \rightarrow \infty$ platí:

$$\frac{b \hat{m} - m}{\sigma \sqrt{n}} \sqrt{\frac{\theta(1-\theta)}{1+3\theta}} \xrightarrow{D} N(0, 1), \quad (3.23)$$

$$\sqrt{n} (\hat{b}_n - b) \xrightarrow{D} N\left(0, \frac{12\sigma^2}{(1-\theta)^3(1+3\theta)}\right), \quad (3.24)$$

$$\sqrt{n} (\hat{\mu}_n - \mu) \xrightarrow{D} N\left(0, \frac{4\sigma^2}{1+3\theta}\right). \quad (3.25)$$

Důkaz. Viz článek Hušková [1998]. □

Na základě věty 5 můžeme sestavit asymptotické intervaly spolehlivosti na hladině $1 - \alpha$ pro parametry m , b a μ ve tvaru:

$$IS_m^\alpha = \left(\hat{m} \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{n} \frac{\hat{\sigma}_n}{\hat{b}_n} \sqrt{\frac{1+3\hat{\theta}}{\hat{\theta}(1-\hat{\theta})}} \right), \quad (3.26)$$

$$IS_b^\alpha = \left(\hat{b}_n \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{12\hat{\sigma}_n^2}{n(1-\hat{\theta})^3(1+3\hat{\theta})}} \right), \quad (3.27)$$

$$IS_\mu^\alpha = \left(\hat{\mu}_n \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{4\hat{\sigma}_n^2}{n(1+3\hat{\theta})}} \right), \quad (3.28)$$

kde $\hat{\theta} = \frac{\hat{m}}{n}$.

3.2.3 Parametrický bootstrap pro lineární model postupné změny

Parametrickou verzi bootstrapu použijeme ke zkonstruování alternativních intervalů spolehlivosti pro parametry m , b , μ a případně i σ^2 a MED_Δ . Tyto intervaly pro m , b , μ poté budeme v sekci 3.2.5 porovnávat s asymptotickými intervaly IS_m^α , IS_b^α a IS_μ^α , které jsme určili v předchozí podkapitole 3.2.

Tam jsme také popsali jak vypočteme odhady \hat{m} , \hat{b}_n , $\hat{\mu}_n$, $\hat{\sigma}_n^2$. Tyto odhady použijeme ke generování nových pozorování Y_i^* jako:

$$Y_i^* = \hat{\mu}_n + \hat{b}_n \cdot x_{i, \hat{m}} + \epsilon_i^*, \text{ kde } i = 1, \dots, n \quad (3.29)$$

a ϵ_i^* generujeme náhodně z rozdělení $N(0, \hat{\sigma}_n^2)$.

V každé iteraci tedy vygenerujeme jeden soubor nových pozorování Y_i^* , pro $i = 1, \dots, n$ a na jeho základě určíme nové odhady \hat{m}^* , \hat{b}_n^* , $\hat{\mu}_n^*$, $\hat{\sigma}_n^{2*}$ a $\widehat{\text{MED}}_\Delta^*$ příslušných parametrů stejně jako v podkapitole 3.2. Tento postup opakujeme pro předem daný počet iterací.

Intervaly spolehlivosti ISB_m^α , ISB_μ^α , ISB_b^α , $ISB_{\sigma^2}^\alpha$, ISB_Δ^α pro parametry m , μ , b , σ^2 , MED_Δ můžeme poté sestavit na hladině spolehlivosti $1 - \alpha$ jako:

$$ISB_m^\alpha = \left(\hat{m} - q_{1-\alpha/2}^m, \hat{m} + q_{\alpha/2}^m \right), \quad (3.30)$$

$$ISB_\mu^\alpha = \left(\hat{\mu}_n - q_{1-\alpha/2}^\mu, \hat{\mu}_n + q_{\alpha/2}^\mu \right), \quad (3.31)$$

$$ISB_b^\alpha = \left(\hat{b}_n - q_{1-\alpha/2}^b, \hat{b}_n + q_{\alpha/2}^b \right), \quad (3.32)$$

$$ISB_{\sigma^2}^\alpha = \left(\hat{\sigma}_n^2 - q_{1-\alpha/2}^{\sigma^2}, \hat{\sigma}_n^2 + q_{\alpha/2}^{\sigma^2} \right), \quad (3.33)$$

$$ISB_\Delta^\alpha = \left(\widehat{\text{MED}}_\Delta - q_{1-\alpha/2}^\Delta, \widehat{\text{MED}}_\Delta + q_{\alpha/2}^\Delta \right). \quad (3.34)$$

Příčemž kvantily $q_{\alpha/2}^\bullet$ a $q_{1-\alpha/2}^\bullet$ určíme pro příslušné parametry na základě nových odhadů \hat{m}^* , \hat{b}_n^* , $\hat{\mu}_n^*$, $\hat{\sigma}_n^{2*}$, $\widehat{\text{MED}}_\Delta^*$ ze všech provedených iterací. Například $q_{\alpha/2}^m$ je $\alpha/2$ kvantil rozdělení $\hat{m}^* - \hat{m}$.

Výše uvedená metoda parametrického bootstrapu by měla, především pro menší rozsah výběru, lépe aproximovat rozdělení příslušných parametrů oproti asymptotickému přístupu, který jsme popsali v sekci 3.2.2.

3.2.4 Příklad

Příklad 4. V předchozím příkladu jsme určili látku číslo 144211155 jako aktivní. V tomto příkladu odhadneme parametry příslušného modelu (3.1) na základě stejných dat. K tomu použijeme vztahy (3.18), (3.16) a (3.17). Dále určíme intervaly spolehlivosti pro zmíněné odhady, jednak na základě jejich asymptotických vlastností dle (3.26), (3.51) a (3.28), ale také pomocí bootstrapu (viz sekce 3.2.3) s 10 000 iteracemi a předpokladem normálního rozdělení residuí.

Tabulka 3.3 shrnuje výsledné odhady a jejich 95% intervaly spolehlivosti, kde volíme $\Delta = 30$. Vidíme, že především pro parametry m a μ jsou oba typy intervalů spolehlivosti velmi podobné.

Tabulka 3.3: Odhady parametrů modelu postupné změny pro látku č. 144211155, kde $\Delta = 30$

Parametr	Odhad	Int. spol. IS^α	Bootstrap ISB^α
m	10,32	(9,69; 10,94)	(9,56; 10,85)
b	138,68	(121,34; 156,02)	(111,24; 168,07)
μ	-0,42	(-2,16; 1,33)	(-2,27; 1,51)
σ^2	9,11	—	(4,20; 15,47)
θ	0,69	(0,65; 0,73)	(0,64; 0,72)
MED_Δ	13,61	—	(13,26; 13,90)

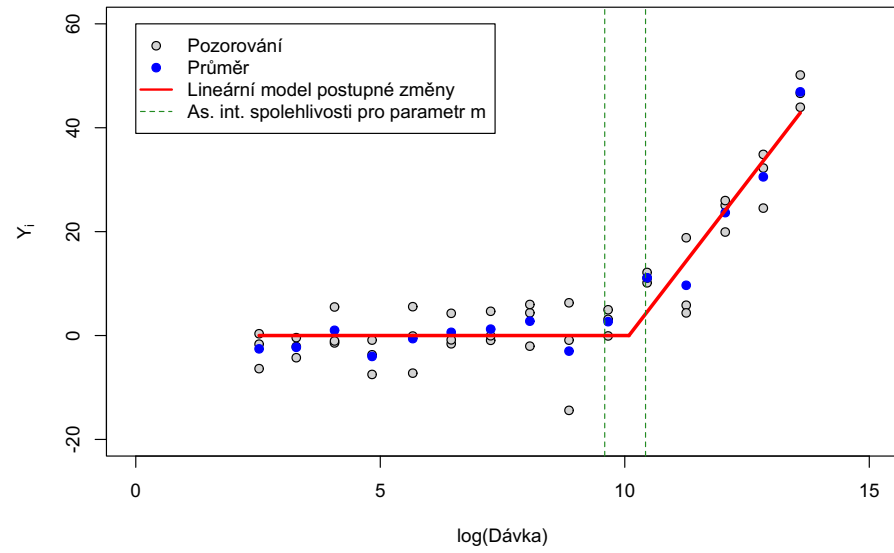
Na obrázku 3.3 vidíme odhadnutou modelovou křivku spolu s 95% asymptotickým intervalem spolehlivosti pro parametr m . Poznamenejme, že hodnoty odhadu parametru m a jeho intervalu spolehlivosti je nutno transformovat tak, aby odpovídaly horizontální ose na obrázku 3.3. Stejně tak odhad MED_Δ zde odpovídá dávce \hat{d}_Δ , kde $\log(\hat{d}_\Delta) \doteq 12,53$. RSE je v tomto případě přibližně 3,2.

Pro porovnání použijeme pro stejnou látku číslo 144211155 odhad pomocí metody MCP-Mod. Na obrázku 3.4 pak vidíme výsledný odhad exponenciálního modelu. RSE je v tomto případě přibližně 4,8 a $\log(\widehat{MED}_{30}) \doteq 12,63$.

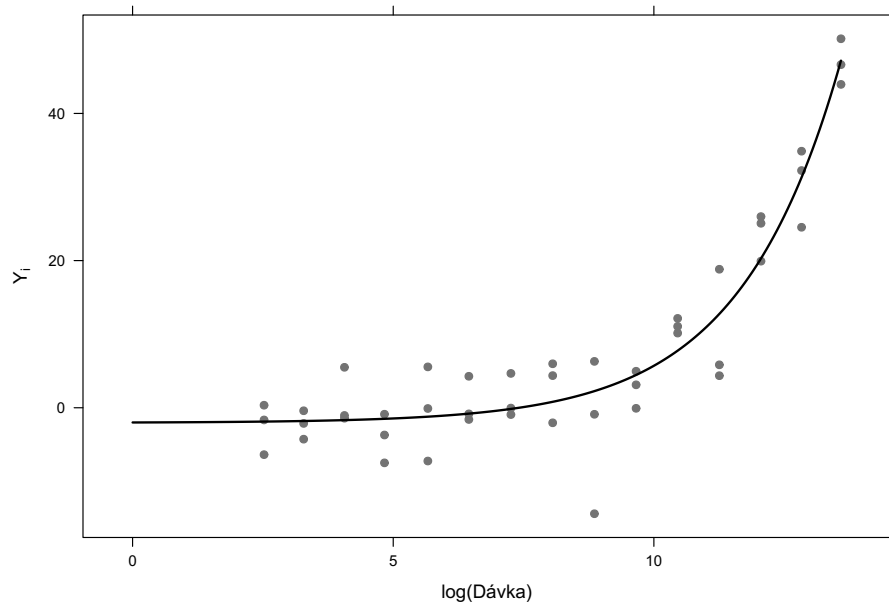
Oba výše popsané modely podobně zachycují zvyšující se úmrt-nost buněk pro pět nejvyšších dávek. Nicméně oba modely nejsou omezeny nějakou horní asymptotou. V následující kapitole 3.3 proto uvedeme další dva modely postupné změny.

Graf 3.5 zobrazuje histogramy nových odhadů parametrů modelu postupné změny, které byly vypočteny při použití výše zmíněné metody bootstrapu. Vidíme, že především pro parametry μ a m přibližně odpovídá aproximované rozdělení příslušnému normálnímu. V případě parametru m vidíme největší odlišnost pro dávku s pořadím 10, což je pravděpodobně způsobeno specifickým tvarem funkce $f_m(m)$, kterou maximalizujeme podle (3.18) při odhadu parametru m . Tvar této funkce pro skutečnou odezvu látky číslo 144211155 lze nalézt na obrázku 3.6. Pro parametr b odhadujeme pomocí bootstrapu širší interval, čemuž odpovídá i obrázek 3.5.

Obrázek 3.3: Odhad lineárního modelu postupné změny pro látku č. 144211155

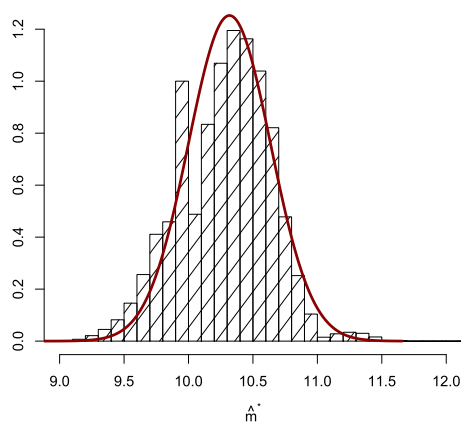


Obrázek 3.4: Odhad exponenciálního modelu pro látku č. 144211155 pomocí metody MCP-Mod

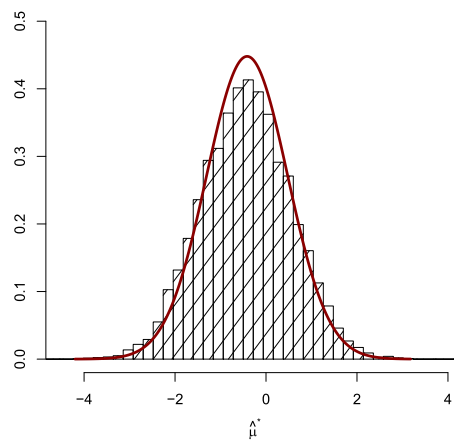


Obrázek 3.5: Histogramy bootstrapových odhadů \hat{m}^* , $\hat{\mu}_n^*$, \hat{b}_n^* a $\widehat{\text{MED}}_\Delta^*$ s hustotou příslušného normálního rozdělení (tmavě červená čára)

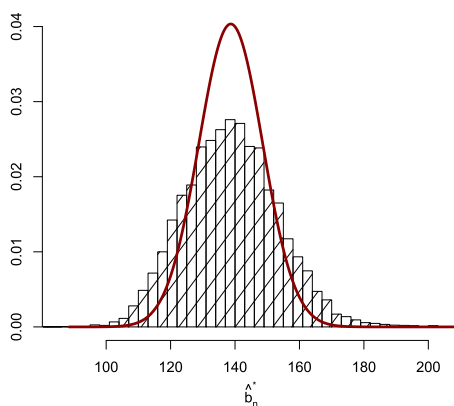
(a) Histogram odhadů \hat{m}^*



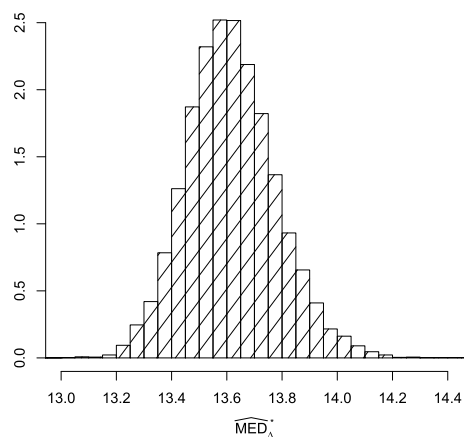
(b) Histogram odhadů $\hat{\mu}_n^*$



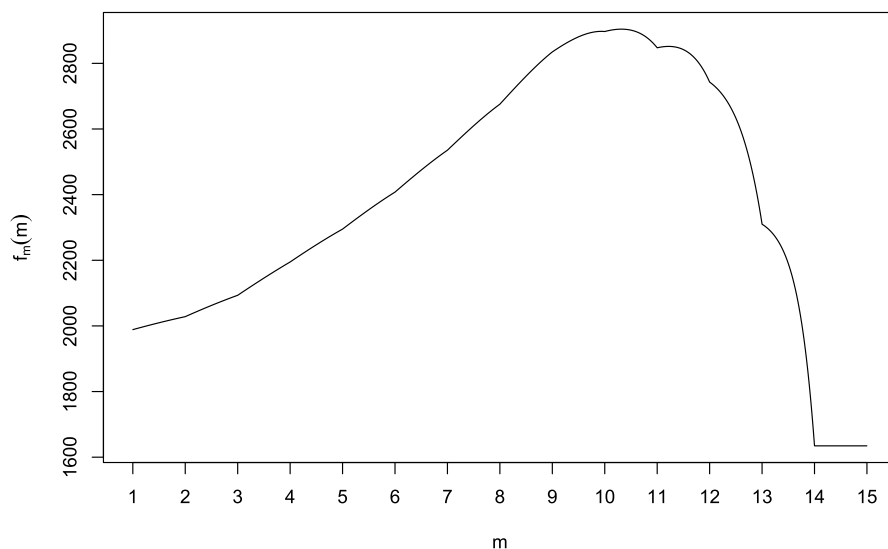
(c) Histogram odhadů \hat{b}_n^*



(d) Histogram odhadů $\widehat{\text{MED}}_\Delta^*$ pro $\Delta = 30$



Obrázek 3.6: Graf funkce $f_m(m)$



3.2.5 Simulační analýza intervalů spolehlivosti

V této sekci uvádíme výsledky simulační studie za účelem porovnání obou typů výše uvedených intervalů spolehlivosti.

V každé testovací sadě nejprve zvolíme hodnoty parametrů μ , m , b , σ^2 a n a poté provedeme 500 simulací, přičemž v každé z nich vygenerujeme pozorování Y_i^* , kde $i = 1, \dots, n$, na základě zvolených parametrů a potom určíme oba typy intervalů spolehlivosti pro parametry m , μ , b . V každé jednotlivé simulaci tedy zkonstruujeme pro $\alpha = 0,05$ intervaly IS_μ^α , IS_m^α , IS_b^α a také ISB_μ^α , ISB_m^α , ISB_b^α . Pro bootstrap zde používáme v každé simulaci 1000 iterací.

V tabulce 3.4 lze nalézt zvolené parametry pro jednotlivé simulace, přičemž vždy volíme $\mu = 2$ a $n = 30$. Dále v tabulce uvádíme relativní pokrytí skutečných parametrů m , μ , b příslušnými intervaly spolehlivosti.

Je vidět, že při menším rozptylu je pokrytí pro oba typy intervalů většinou vyšší než při větším rozptylu. Dalším poznatkem je, že pokud se bod změny nachází uprostřed zvoleného rozsahu, pozorujeme vyšší pokrytí, než pokud je bod změny blíže u konce rozsahu.

Na základě provedených simulací můžeme tvrdit, že vyšší pokrytí mají většinou intervaly sestavené pomocí bootstrapu. Jedinou významnou výjimkou je interval pro parametr m , kdy se bod změny nachází na okrajích rozsahu při menším sklonu křivky (menší hodnota parametru b) a větším rozptylu. Nicméně pokud se v tomto případě hodnota parametru b zvýší, opět pozorujeme větší pokrytí u intervalů sestavených pomocí bootstrapu.

Tabulka 3.4: Relativní pokrytí skutečných parametrů (v %) pro $\mu = 2$ a $n = 30$

Hodnoty parametrů			Asymptotická metoda			Metoda bootstrapu		
b	σ^2	m	IS_μ^α	IS_m^α	IS_b^α	ISB_μ^α	ISB_m^α	ISB_b^α
20	10	3	72,0	87,2	85,4	78,4	64,0	94,8
		15	83,4	81,0	68,6	91,2	83,4	85,8
		27	90,2	61,4	56,0	94,2	52,2	88,4
	0,25	3	64,6	90,2	91,8	94,4	92,2	93,2
		15	89,6	93,2	78,0	95,2	94,4	95,4
		27	90,4	81,6	71,2	92,6	83,6	87,0
150	10	3	63,2	89,2	92,0	94,6	93,6	93,6
		15	89,6	95,0	79,2	93,6	96,6	94,2
		27	92,2	88,6	71,4	93,0	91,4	87,0
	0,25	3	66,4	91,2	89,6	92,6	93,0	91,6
		15	88,0	94,2	79,2	92,8	95,0	93,8
		27	90,6	89,0	70,2	90,8	89,6	92,0

3.3 Modelování: Kvadratický model postupné změny

V sekci 3.1.1 jsme popsali, jakým způsobem lze určit, zda je testovaná látka aktivní či nikoliv. Tento postup byl založen na vlastnostech modelu (3.1), jehož kalibraci jsme popsali v podkapitole 3.2. Jeho nevýhodou je, že není omezen nějakou horní asymptotou, což se při reálném použití ukazuje jako nevhodné. Problém je v tom, že při zvětšení rozsahu dávky nad původní měřené hodnoty model vždy předpoví zvětšení odezvy. V praxi se ale často stává, že se receptory zkoumaných buněk při dostatečně velké dávce nasatí a pro ještě vyšší dávky už větší reakci nepozorujeme. Podobně, když při dostatečně velké dávce pozorujeme úmrtnost všech zkoumaných buněk, tak zvýšení dávky nemá žádný další efekt.

Proto v této části uvedeme kvadratický model postupné změny, který tuto vlastnost nemá. Jeho použití je také v případě některých látek vhodnější než použití lineárního modelu postupné změny, například pro látku č. 144204663, kterou jsme analyzovali v příkladu 2 pomocí metody MCP-Mod (viz obrázek 2.3). V sekci 3.4 představíme také Emax model postupné změny, který je omezen horní asymptotou.

Jarušková [2001] uvažovala kvadratický model s postupnou změnou nalevo od předem neznámého bodu \tilde{m} definovaný následovně:

$$Y_i = \tilde{\mu} + d \cdot (\tilde{m} - \frac{i}{n})_+ + e \cdot (\tilde{m} - \frac{i}{n})_+^2 + \tilde{\epsilon}_i, \quad i = 1, \dots, n, \quad (3.35)$$

kde $\tilde{\epsilon}_i$ jsou i.i.d. residua a \tilde{m} , d , e jsou parametry.

Dále předpokládejme, že známe parametr $\tilde{\mu}$, pak můžeme bez újmy na obecnosti uvažovat $\tilde{\mu} = 0$. Pro zjednodušení uvažujme, že známe také rozptyl $\tilde{\sigma}^2$ residuí $\tilde{\epsilon}_i$ a položíme $\tilde{\sigma}^2 = 1$. Model (3.35) pak přepíšeme jako:

$$Y_i = d \cdot (\tilde{m} - \frac{i}{n})_+ + e \cdot (\tilde{m} - \frac{i}{n})_+^2 + \tilde{\epsilon}_i, \quad i = 1, \dots, n, \quad (3.36)$$

za platnosti následujících předpokladů:

($\tilde{P}1$) $\tilde{m} \in (0, 1)$, $d \neq 0$ a $e \neq 0$.

($\tilde{P}2$) Residua $\tilde{\epsilon}_1, \dots, \tilde{\epsilon}_n$ jsou nezávislá, stejně rozdělená s $E \tilde{\epsilon}_i = 0$, $\text{var } \tilde{\epsilon}_i = \sigma^2 = 1$ a platí $E |\tilde{\epsilon}_i|^{2+\omega} < \infty$ pro $i = 1, \dots, n$ a nějaké $\omega > 0$.

($\tilde{P}3$) $d > 0$, $e < 0$.

Poznámka. Pro $d = 0$ platí analogické výsledky.

Předpoklad ($\tilde{P}3$) přidáváme pouze z praktických důvodů popsaných v úvodu této podkapitoly. Na obrázku 3.7 vidíme tvar křivky modelu (3.36) pro $d = 200$, $e = -300$, $n = 15$, $\tilde{m} = 5/n$.

Nyní ještě dále upravíme model (3.36) tak, že budeme brát indexy v opačném pořadí (stejně značení) a transformujeme parametr \tilde{m} jako $t = 1 - \tilde{m}$.

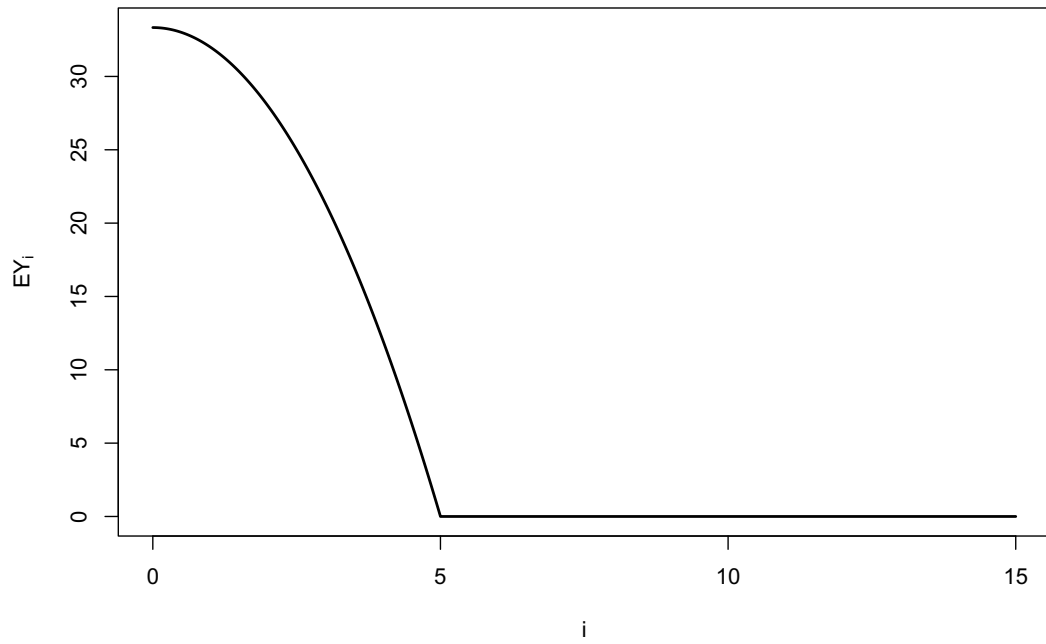
Transformaci provádíme především kvůli tomu, aby se výsledný model dal porovnat s metodou MCP-Mod, lineárním modelem postupné změny a také kvůli charakteru následně použitých dat. Dostáváme tedy výsledný model:

$$Y_i = d \cdot (\frac{i}{n} - t)_+ + e \cdot (\frac{i}{n} - t)_+^2 + \tilde{\epsilon}_i, \quad i = 1, \dots, n, \quad (3.37)$$

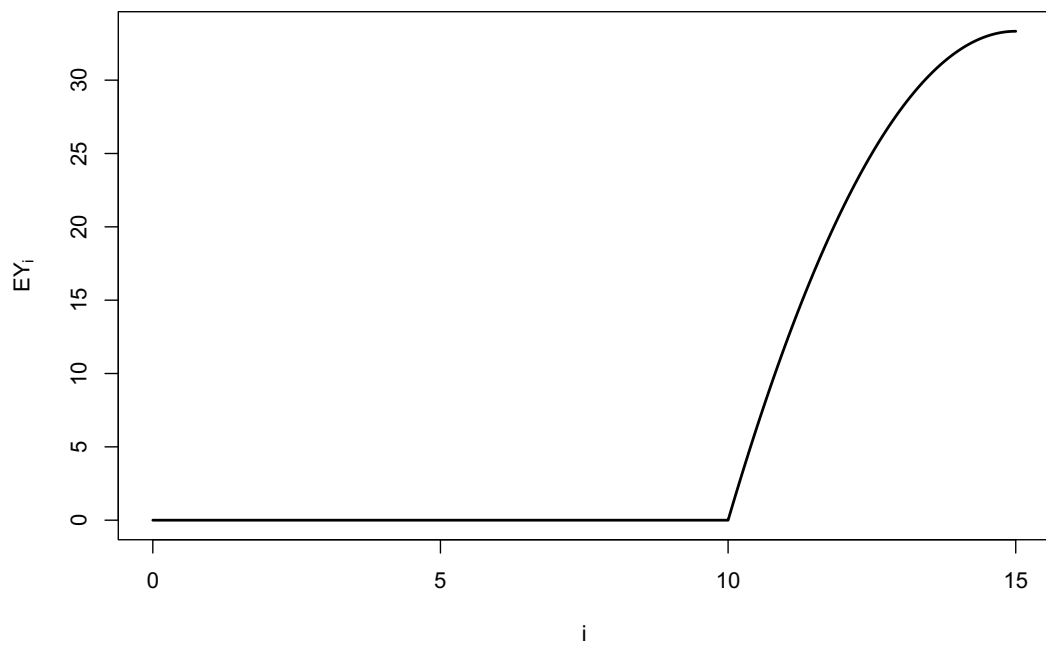
za platnosti předpokladů ($\tilde{P}1$), ($\tilde{P}2$) a ($\tilde{P}3$). Na obrázku 3.8 vidíme tvar křivky modelu (3.37) pro $d = 200$, $e = -300$, $n = 15$, $t = 1 - 5/n$.

Dále budeme značit: $\tilde{x}_{i,j} = (\frac{i}{n} - j)_+$.

Obrázek 3.7: Kvadratický model (3.36) postupné změny



Obrázek 3.8: Kvadratický model (3.37) postupné změny



3.3.1 Odhad kvadratického modelu postupné změny

Předpokládejme, že pro známé $\delta \in (0, \frac{1}{2})$ platí $t \in [\delta, 1 - \delta]$. Pak odhady \hat{t} , \hat{d} , \hat{e} parametrů modelu (3.37) nalezneme pomocí metody nejmenších čtverců jako řešení minimalizační úlohy:

$$\min_{t \in [\delta, 1 - \delta], d \in \mathbb{R}^+, e \in \mathbb{R}^-} \sum_{i=1}^n \left(Y_i - d \cdot \ddot{x}_{i,t} - e \cdot \ddot{x}_{i,t}^2 \right)^2. \quad (3.38)$$

Nechť $\gamma = (d, e)^T$, $\mathbf{Y} = (Y_1, \dots, Y_n)^T$ a

$$\mathbf{X}_k = \begin{pmatrix} \ddot{x}_{1,k} & \ddot{x}_{1,k}^2 \\ \vdots & \vdots \\ \ddot{x}_{n,k} & \ddot{x}_{n,k}^2 \end{pmatrix}, \text{ kde } k \in [\delta, 1 - \delta]. \quad (3.39)$$

Potom můžeme úlohu (3.38) přepsat jako:

$$\min_{\gamma, k} (\mathbf{Y} - \mathbf{X}_k \gamma)^T (\mathbf{Y} - \mathbf{X}_k \gamma). \quad (3.40)$$

Po dosazení $\hat{\gamma}(k) = (\mathbf{X}_k^T \mathbf{X}_k)^{-1} \mathbf{X}_k^T \mathbf{Y}$ dostáváme minimalizační úlohu přes jednu dimenzi:

$$\min_k \left\{ \mathbf{Y}^T \mathbf{Y} - \mathbf{Y}^T \mathbf{X}_k (\mathbf{X}_k^T \mathbf{X}_k)^{-1} \mathbf{X}_k^T \mathbf{Y} \right\}, \quad (3.41)$$

jejíž řešení odpovídá stejné hodnotě, která maximalizuje:

$$\hat{t} = \operatorname{argmax}_k \mathbf{Y}^T \mathbf{X}_k (\mathbf{X}_k^T \mathbf{X}_k)^{-1} \mathbf{X}_k^T \mathbf{Y}. \quad (3.42)$$

Takto tedy získáme odhad \hat{t} a poté vypočteme \hat{d} , \hat{e} jako:

$$\hat{\gamma}(\hat{t}) = (\hat{d}, \hat{e})^T. \quad (3.43)$$

Dále rozptyl residuí $\tilde{\epsilon}_i$ modelu (3.37) můžeme odhadnout jako:

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(Y_i - \hat{d} \cdot \ddot{x}_{i,\hat{t}} - \hat{e} \cdot \ddot{x}_{i,\hat{t}}^2 \right)^2. \quad (3.44)$$

3.3.2 Asymptotické vlastnosti odhadů parametrů kvadratického modelu postupné změny

V této sekci uvedeme asymptotické vlastnosti parametrů modelů (3.36) a (3.37), které budeme používat především v kapitole 4. Čerpáme zde z článku Jarušková [2001] a metodu rozšíříme tak, abychom mohli později sestavit interval spolehlivosti pro odhad minimální efektivní dávky $\widehat{\text{MED}}_{\Delta}$.

Věta 6. Za platnosti předpokladů $(\widetilde{P1})$ a $(\widetilde{P2})$ platí pro model (3.36), že vektor $\mathbf{v} = \sqrt{n}(\widehat{\mathbf{m}} - \widetilde{\mathbf{m}}, \widehat{d} - d, \widehat{e} - e)^T$ má asymptoticky normální rozdělení s kovarianční maticí \mathbf{G}^{-1} , kde:

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} d^2 \cdot \widetilde{m} + 4 \cdot d \cdot e \cdot \widetilde{m}^2/2 + 4 \cdot e^2 \cdot \widetilde{m}^3/3 & \dots & \dots \\ d \cdot \widetilde{m}^2/2 + 2 \cdot e \cdot \widetilde{m}^3/3 & \widetilde{m}^3/3 & \dots \\ d \cdot \widetilde{m}^3/3 + 2 \cdot e \cdot \widetilde{m}^4/4 & \widetilde{m}^4/4 & \widetilde{m}^5/5 \end{pmatrix}. \quad (3.45)$$

Speciálně platí, že $\sqrt{n}(\widehat{\mathbf{m}} - \widetilde{\mathbf{m}})$ má asymptoticky normální rozdělení $N(0, \frac{9}{d^2 \widetilde{m}})$. Dále podobně $\sqrt{n}(\widehat{e} - e)$ má asymptoticky normální rozdělení $N(0, \frac{180}{\widetilde{m}^5})$.

Důkaz. Lze nalézt v článku Jarušková [2001]. □

Na základě věty 6 dostaneme při stejných předpokladech obdobné tvrzení pro model (3.37):

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{v} = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \sqrt{n} \begin{pmatrix} \widehat{\mathbf{m}} - \widetilde{\mathbf{m}} \\ \widehat{d} - d \\ \widehat{e} - e \end{pmatrix} = \sqrt{n} \begin{pmatrix} \widehat{t} - t \\ \widehat{d} - d \\ \widehat{e} - e \end{pmatrix} \stackrel{\text{as.}}{\approx} N(\mathbf{0}, \mathbf{A} \mathbf{G}^{-1} \mathbf{A}^T), \text{ jelikož} \quad (3.46)$$

$$\widehat{\mathbf{m}} - \widetilde{\mathbf{m}} = 1 - \widehat{t} - (1 - t) = t - \widehat{t},$$

Věta 7. Za platnosti předpokladů $(\widetilde{P1})$ a $(\widetilde{P2})$ modelu (3.37) tedy platí:

$$\sqrt{n} \begin{pmatrix} \widehat{t} - t \\ \widehat{d} - d \\ \widehat{e} - e \end{pmatrix} \stackrel{\text{as.}}{\approx} N(\mathbf{0}, \mathbf{H}^{-1}), \text{ kde} \quad (3.47)$$

$$\mathbf{H} = \begin{pmatrix} d^2 \cdot (1 - t) + 4 \cdot d \cdot e \cdot \frac{(1-t)^2}{2} + 4 \cdot e^2 \cdot \frac{(1-t)^3}{3} & \dots & \dots \\ -d \cdot \frac{(1-t)^2}{2} - 2 \cdot e \cdot \frac{(1-t)^3}{3} & \frac{(1-t)^3}{3} & \dots \\ -d \cdot \frac{(1-t)^3}{3} - 2 \cdot e \cdot \frac{(1-t)^4}{4} & \frac{(1-t)^4}{4} & \frac{(1-t)^5}{5} \end{pmatrix}. \quad (3.48)$$

Speciálně platí, že $\sqrt{n}(\widehat{t} - t)$ má asymptoticky rozdělení $N(0, \frac{9}{d^2(1-t)})$

Důkaz. Viz výše při použití $\mathbf{H}^{-1} = \mathbf{A} \mathbf{G}^{-1} \mathbf{A}^T$ v (3.46). □

Míchal [2020] navrhl postup úpravy matice \mathbf{G} (viz (3.45)) za předpokladu neznámého rozptylu residuí v modelu (3.36). Předpoklad $(\widetilde{P2})$ tedy nahradíme předpokladem:

$(\widetilde{P2a})$ Residua $\tilde{\epsilon}_1, \dots, \tilde{\epsilon}_n$ jsou nezávislá, stejně rozdělená s $E \tilde{\epsilon}_i = 0$, $\text{var } \tilde{\epsilon}_i = \sigma^2$ a platí $E |\tilde{\epsilon}_i|^{2+\omega} < \infty$ pro $i = 1, \dots, n$ a nějaké $\omega > 0$.

Větu 7 potom upravíme následovně:

Věta 8. Za platnosti předpokladů $(\widetilde{P1})$ a $(\widetilde{P2a})$ modelu (3.37) platí:

$$\sqrt{n} \begin{pmatrix} \hat{t} - t \\ \hat{d} - d \\ \hat{e} - e \end{pmatrix} \stackrel{as.}{\approx} N(\mathbf{0}, \mathbf{H}_\sigma^{-1}), \text{ kde} \quad (3.49)$$

$$\mathbf{H}_\sigma^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{9\sigma^2}{d^2(1-t)} & \cdots & \cdots \\ \frac{18\sigma^2(2d+e-et)}{d^2(1-t)^2} & \frac{12\sigma^2\{16d^2+12de(1-t)+3e^2(1-t)^2\}}{d^2(1-t)^3} & \cdots \\ -\frac{30\sigma^2}{d(1-t)^3} & -\frac{60\sigma^2(3d+e-et)}{d(1-t)^4} & \frac{180\sigma^2}{(1-t)^5} \end{pmatrix}. \quad (3.50)$$

Speciálně tedy platí, že $\sqrt{n}(\hat{t} - t)$ má asymptoticky rozdělení $N(0, \frac{9\sigma^2}{d^2(1-t)})$

Důkaz. Viz věta 7 a Michal [2020]. □

Poznámka. Matici \mathbf{H}_σ^{-1} jsme vypočetli pomocí programu Wolfram Mathematica na základě upravené matice \mathbf{G} a následně upravené matice \mathbf{H} .

Pomocí vztahu (3.49) a navíc za předpokladu $(\widetilde{P3})$ budeme stejným způsobem jako v sekci 3.2.2 konstruovat asymptotické intervaly spolehlivosti IS_t^α , IS_d^α a IS_e^α pro jednotlivé parametry t , d , e na hladině pokrytí $1 - \alpha$. V následující části ale navíc určíme i interval spolehlivosti pro dávku, která je potřebná k dosažení předem stanovené požadované odezvy.

Níže uvádíme tvary zmíněných asymptotických intervalů:

$$IS_t^\alpha = \left(\hat{t} \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{9\hat{\sigma}^2}{n \cdot \hat{d}^2 (1 - \hat{t})}} \right), \quad (3.51)$$

$$IS_d^\alpha = \left(\hat{d} \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{12\hat{\sigma}^2\{16\hat{d}^2 + 12\hat{d}\hat{e}(1 - \hat{t}) + 3\hat{e}^2(1 - \hat{t})^2\}}{n \cdot \hat{d}^2 (1 - \hat{t})^3}} \right), \quad (3.52)$$

$$IS_e^\alpha = \left(\hat{e} \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{180\hat{\sigma}^2}{n(1 - \hat{t})^5}} \right). \quad (3.53)$$

3.3.3 Asymptotické vlastnosti MED

V této části sestrojíme pomocí delta metody a předchozí věty interval spolehlivosti pro odhad minimální efektivní dávky $\widehat{\text{MED}}_\Delta$. Vycházíme z modelu (3.37) s předpoklady $(\widetilde{P1})$, $(\widetilde{P2a})$ a $(\widetilde{P3})$. Δ označuje předem zvolenou požadovanou odezvu.

Připomeňme značení:

$$\ddot{x}_{i,t} = \left(\frac{i}{n} - t\right)_+. \quad (3.54)$$

Nejprve chceme pro zvolené Δ najít příslušné i' tak, aby platilo:

$$\Delta = d \cdot \ddot{x}_{i',t} + e \cdot \ddot{x}_{i',t}^2, \quad (3.55)$$

přičemž předpokládáme, že:

$$d^2 + 4e\Delta > 0. \quad (3.56)$$

Hledáme tedy řešení kvadratické rovnice:

$$0 = d \cdot \ddot{x}_{i',t} + e \cdot \ddot{x}_{i',t}^2 - \Delta, \quad (3.57)$$

ale jelikož $d > 0$ a $e < 0$, zajímá nás jen menší z obou kořenů, tj.:

$$x_{i'}^{\ddagger} = \frac{-d + \sqrt{d^2 + 4e\Delta}}{2e}. \quad (3.58)$$

Menší kořen odpovídá menší dávce látky při dosažení stejné odpovědi. Dále nás zajímá jen případ, kdy $\frac{i'}{n} > t$ a dostáváme:

$$\frac{i'}{n} = t + \frac{-d + \sqrt{d^2 + 4e\Delta}}{2e}. \quad (3.59)$$

Například pro křivku na obrázku 3.8 by pro $\Delta = 20$ vyšlo $i' \doteq 11,84$.

Nyní máme:

$$\text{MED}_{\Delta} = g(\Theta) = t + \frac{-d + \sqrt{d^2 + 4e\Delta}}{2e}, \text{ kde } \Theta = \begin{pmatrix} t \\ d \\ e \end{pmatrix} \quad (3.60)$$

a zajímá nás následující asymptotické rozdělení, které určíme dle delta metody jako:

$$\sqrt{n}(g(\hat{\Theta}) - g(\Theta)) \stackrel{\text{as.}}{\approx} N\left(0, \nabla g(\Theta)^T \cdot \mathbf{H}_{\sigma}^{-1} \cdot \nabla g(\Theta)\right), \quad (3.61)$$

kde $\nabla g(\Theta) = \left(\frac{\partial g(\Theta)}{\partial t}, \frac{\partial g(\Theta)}{\partial d}, \frac{\partial g(\Theta)}{\partial e}\right)^T$ a jednotlivé parciální derivace mají tvar:

$$\begin{aligned} \frac{\partial g(\Theta)}{\partial t} &= 1, \\ \frac{\partial g(\Theta)}{\partial d} &= \frac{d}{2e \cdot \sqrt{d^2 + 4e\Delta}} - \frac{1}{2e}, \\ \frac{\partial g(\Theta)}{\partial e} &= \frac{\Delta}{e\sqrt{d^2 + 4e\Delta}} - \frac{-d + \sqrt{d^2 + 4e\Delta}}{2e^2}. \end{aligned}$$

Jsou tedy spojitě na nějakém okolí bodu Θ , který je vnitřním bodem množiny A , kde $g : A \rightarrow \mathbb{R}$ a proto jsou splněny předpoklady delta věty.

Dohromady dostáváme, že $\sqrt{n}(g(\hat{\Theta}) - g(\Theta))$ má asymptoticky normální rozdělení s rozptylem:

$$\nabla g(\Theta)^T \cdot \mathbf{H}_{\sigma}^{-1} \cdot \nabla g(\Theta) = \frac{9\sigma^2 Z}{e^4(1-t)^5(d^2 + 4e\Delta)}, \text{ kde} \quad (3.62)$$

$$\begin{aligned} Z &= 10d^4 - 10d^3 \left(\sqrt{d^2 + 4\Delta e} + 2e(t-1)\right) \\ &\quad + 2d^2e \left(10(t-1)\sqrt{d^2 + 4\Delta e} + 20\Delta + 7e(t-1)^2\right) \\ &\quad - 2d \cdot e^2 \left((t-1) \left(7(t-1)\sqrt{d^2 + 4\Delta e} + 30\Delta\right) + 2e(t-1)^3\right) \\ &\quad - 20d \cdot e\Delta \sqrt{d^2 + 4\Delta e} + e^4(t-1)^4 \\ &\quad + 4e^3(t-1)^2 \left((t-1)\sqrt{d^2 + 4\Delta e} + 7\Delta\right) \\ &\quad + 20\Delta e^2 \left((t-1)\sqrt{d^2 + 4\Delta e} + \Delta\right). \end{aligned} \quad (3.63)$$

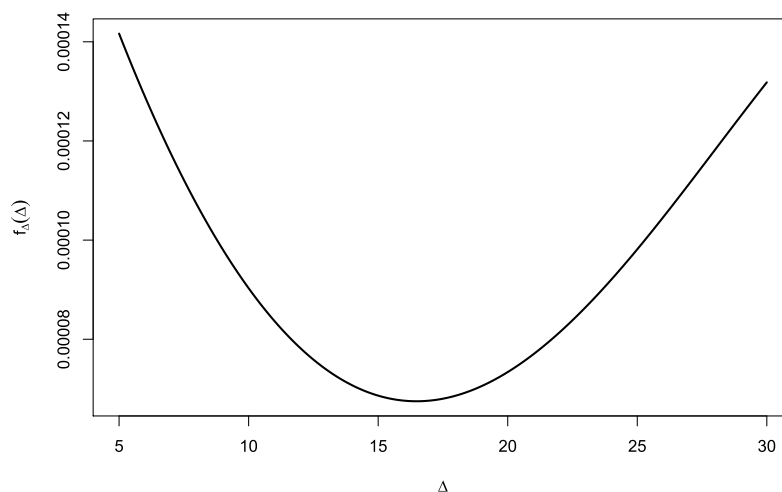
Nakonec sestrojíme na základě vztahu (3.61) interval spolehlivosti IS_{Δ}^{α} pro dávku MED_{Δ} na hladině $1 - \alpha$ jako:

$$IS_{\Delta}^{\alpha} = \left(\widehat{MED}_{\Delta} \mp u_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{9\hat{\sigma}^2 \hat{Z}}{n \cdot \hat{e}^4 (1-\hat{t})^5 (\hat{d}^2 + 4\hat{e}\Delta)}} \right), \text{ kde } \widehat{MED}_{\Delta} = g(\hat{\Theta}). \quad (3.64)$$

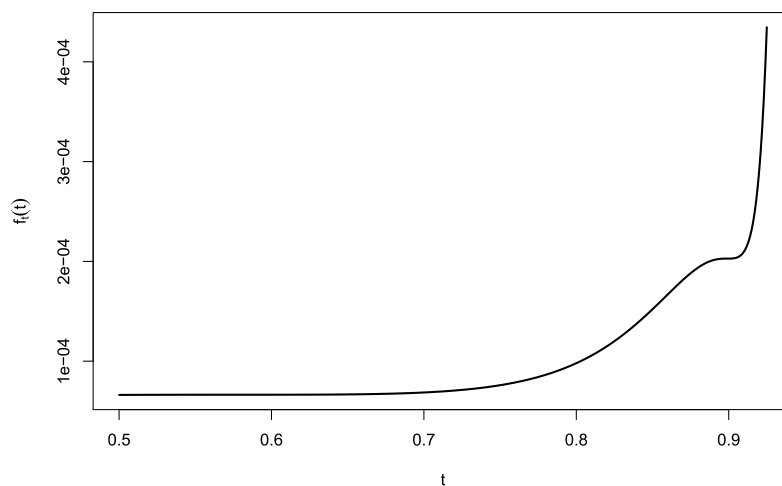
Na obrázku 3.9 vidíme graf funkce $f_{\Delta}(\Delta) = \frac{9\sigma^2 Z}{e^4(1-t)^5(d^2+4e\Delta)}$ při pevných parametrech $d = 250$, $e = -300$, $t = 0,7$, $\sigma^2 = 7$.

Na obrázku 3.10 vidíme graf funkce $f_t(t) = \frac{9\sigma^2 Z}{e^4(1-t)^5(d^2+4e\Delta)}$ při pevných parametrech $d = 250$, $e = -300$, $\Delta = 15$, $\sigma^2 = 7$.

Obrázek 3.9: Graf funkce $f_{\Delta}(\Delta)$



Obrázek 3.10: Graf funkce $f_t(t)$



3.3.4 Parametrický bootstrap pro kvadratický model postupné změny

Podobně jako v sekci 3.2.3 použijeme parametrickou verzi bootstrapu ke zkonstruování alternativních intervalů spolehlivosti pro parametry t , d , e a také pro MED_Δ a σ^2 . Tyto intervaly poté budeme porovnávat s asymptotickými intervaly IS_t^α , IS_d^α , IS_e^α a IS_Δ^α .

Odhady \hat{t} , \hat{d} , \hat{e} použijeme ke generování nových pozorování Y_i^* jako:

$$Y_i^* = \hat{d} \cdot \ddot{x}_{i,\hat{t}} + \hat{e} \cdot (\ddot{x}_{i,\hat{t}})^2 + \epsilon_i^*, \text{ kde } i = 1, \dots, n \quad (3.65)$$

a ϵ_i^* generujeme náhodně z rozdělení $N(0, \hat{\sigma}^2)$.

V každé iteraci tedy vygenerujeme jeden soubor nových pozorování Y_i^* , vždy pro $i = 1, \dots, n$ a na jeho základě určíme nové odhady \hat{t}^* , \hat{d}^* , \hat{e}^* , $\hat{\sigma}^{2*}$ a $\widehat{\text{MED}}_\Delta^*$ příslušných parametrů stejně jako v sekci 3.3.1. Tento postup opakujeme pro předem daný počet iterací.

Intervaly spolehlivosti ISB_t^α , ISB_d^α , ISB_e^α , $ISB_{\sigma^2}^\alpha$ a ISB_Δ^α pro parametry t , d , e , σ^2 a MED_Δ můžeme poté sestavit na hladině spolehlivosti $1 - \alpha$ jako:

$$ISB_t^\alpha = \left(\hat{t} - q_{1-\alpha/2}^t, \hat{t} + q_{\alpha/2}^t \right), \quad (3.66)$$

$$ISB_d^\alpha = \left(\hat{d} - q_{1-\alpha/2}^d, \hat{d} + q_{\alpha/2}^d \right), \quad (3.67)$$

$$ISB_e^\alpha = \left(\hat{e} - q_{1-\alpha/2}^e, \hat{e} + q_{\alpha/2}^e \right), \quad (3.68)$$

$$ISB_{\sigma^2}^\alpha = \left(\hat{\sigma}^2 - q_{1-\alpha/2}^{\sigma^2}, \hat{\sigma}^2 + q_{\alpha/2}^{\sigma^2} \right), \quad (3.69)$$

$$ISB_\Delta^\alpha = \left(\widehat{\text{MED}}_\Delta - q_{1-\alpha/2}^\Delta, \widehat{\text{MED}}_\Delta + q_{\alpha/2}^\Delta \right). \quad (3.70)$$

Příčemž kvantily $q_{\alpha/2}^\bullet$ a $q_{1-\alpha/2}^\bullet$ určíme pro příslušné parametry na základě nových odhadů \hat{t}^* , \hat{d}^* , \hat{e}^* , $\hat{\sigma}^{2*}$ a $\widehat{\text{MED}}_\Delta^*$ ze všech provedených iterací. Například $q_{\alpha/2}^t$ je $\alpha/2$ kvantil rozdělení $\hat{t}^* - \hat{t}$.

Výše uvedená metoda parametrického bootstrapu by měla, především pro menší rozsah výběru, lépe aproximovat rozdělení příslušných parametrů oproti asymptotickému přístupu, který jsme popsali v sekci 3.3.2.

3.3.5 Příklad

Příklad 5. Stejným způsobem jako v příkladu 3 (viz sekce 3.1.1) jsme otestovali další látku č. 144211224 a na základě tohoto testování jsme ji označili za aktivní. Opět bereme odezvu Y_i jako průměr ze třech pozorování pro každou dávku.

Nyní přejdeme přímo k odhadům kvadratického modelu. K tomu používáme postup popsany v sekci 3.3.1.

Na obrázku 3.11 vidíme odezvu při podání výše zmíněné látky, odhadnutý kvadratický model postupné změny a asymptotický interval spolehlivosti pro MED_{20} . Odhad $\widehat{\text{MED}}_{20}$ zde po transformaci odpovídá dávce \hat{d}_{20} , kde $\log(\hat{d}_{20}) \doteq 11,39$. RSE je v tomto případě přibližně 3,3.

Dále určíme intervaly spolehlivosti pro zmíněné odhady jednak na základě jejich asymptotických vlastností dle (3.51), (3.52), (3.53), (3.64), ale také pomocí bootstrapu (viz sekce 3.3.4) s 10 000 iteracemi a předpokladem normálního rozdělení residuí. Výsledky pro $\Delta = 20$ a $\alpha = 0,05$ shrnuje tabulka 3.5. Vidíme, že oba typy intervalů spolehlivosti jsou podobné, přičemž bootstrapové intervaly jsou lehce širší.

Tabulka 3.5: Odhady parametrů kvadratického modelu postupné změny pro látku č. 144211224

Parametr	Odhad	Int. spol. IS_{\bullet}^{α}	Bootstrap ISB_{\bullet}^{α}
t	0,71	(0,68; 0,75)	(0,67; 0,78)
d	250,36	(142,37; 358,34)	(126,84; 368,93)
e	-509,57	(-967,27; -51,87)	(-917,12; 42,60)
σ^2	9,21	–	(4,48; 15,68)
MED_{Δ}	0,81	(0,78; 0,84)	(0,78; 0,83)

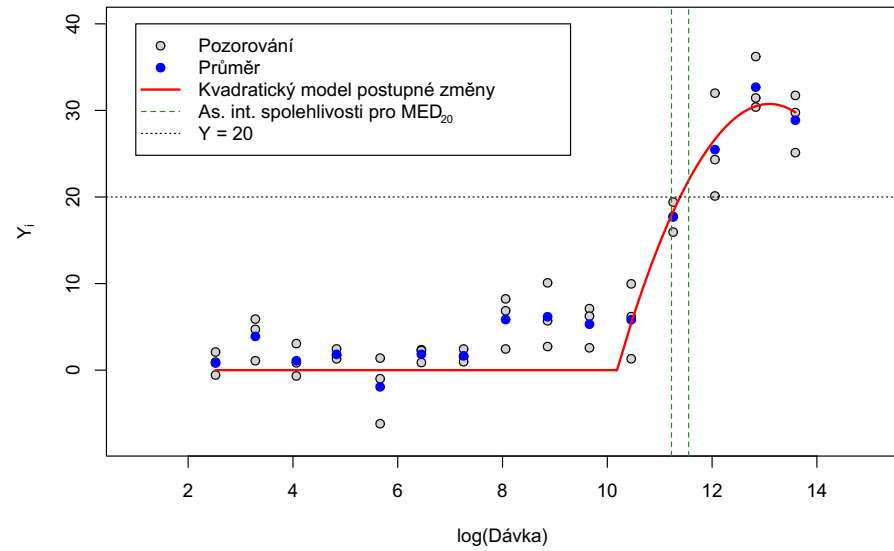
Pro porovnání použijeme pro stejnou látku číslo 144211224 také postup metody MCP-Mod. Na obrázku 3.12 pak vidíme výsledný odhad logistického modelu. RSE je v tomto případě přibližně 3,4 a $\log(\widehat{\text{MED}}_{20}) \doteq 11,65$.

Oba uvedené modely podobně zachycují zvyšující se odezvu pro čtyři největší dávky.

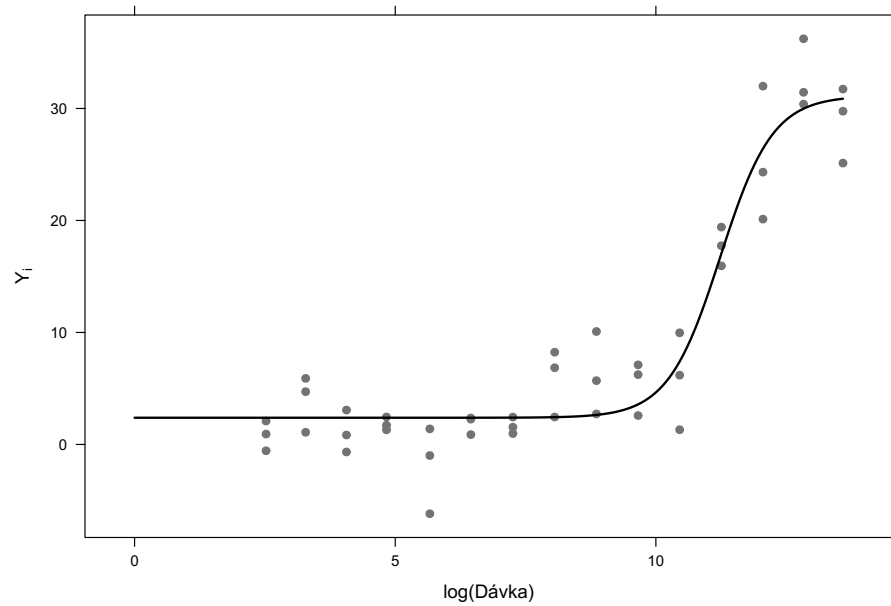
Na obrázku 3.13 uvádíme histogramy nových odhadů parametrů modelu postupné změny, které byly vypočteny při použití výše zmíněné metody bootstrapu a také hustotu příslušného normálního rozdělení s odhadnutým rozptylem $\hat{\sigma}^2$.

Vidíme, že aproximované rozdělení přibližně odpovídá příslušnému normálnímu.

Obrázek 3.11: Odhad kvadratického modelu postupné změny pro látku č. 144211224

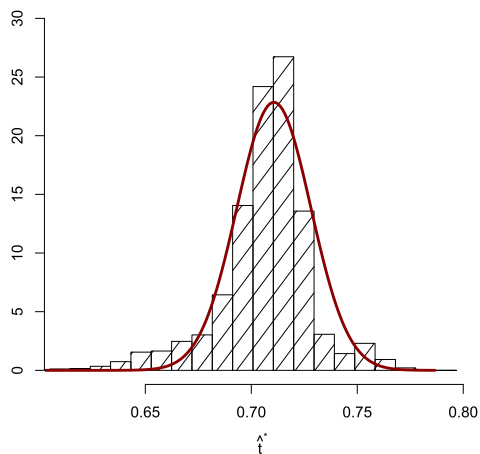


Obrázek 3.12: Odhad logistického modelu pro látku č. 144211224 pomocí metody MCP-Mod

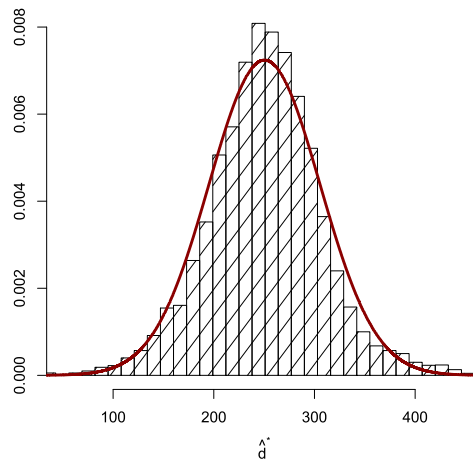


Obrázek 3.13: Histogramy bootstrapových odhadů \hat{t}^* , \hat{d}^* , \hat{e}^* , $\widehat{\text{MED}}_{\Delta}^*$ s hustotou příslušného normálního rozdělení (tmavě červená čára) s odhadnutým rozptylem

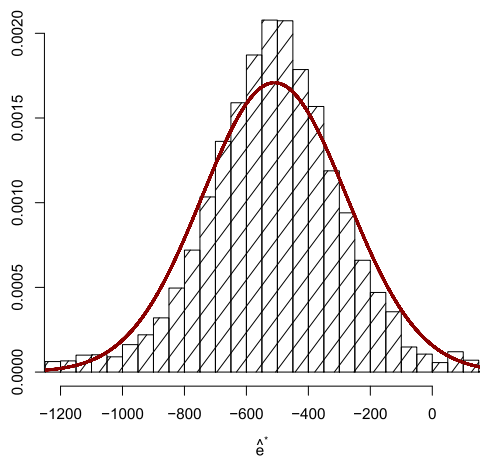
(a) Histogram odhadů \hat{t}^*



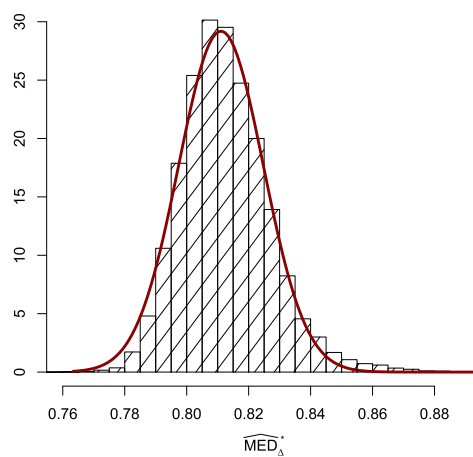
(b) Histogram odhadů \hat{d}^*



(c) Histogram odhadů \hat{e}^*



(d) Histogram odhadů $\widehat{\text{MED}}_{\Delta}^*$



3.3.6 Simulační analýza intervalů spolehlivosti

V této sekci uvádíme výsledky simulační studie za účelem porovnání obou typů výše uvedených intervalů spolehlivosti.

V každé testovací sadě nejprve zvolíme hodnoty parametrů d , e , t , σ^2 , n a vypočteme Δ jako:

$$\Delta = \frac{1}{2} \cdot \max_{i=1, \dots, n} Y_i,$$

kde pro Y_i platí vztah (3.37) za předpokladů $(\widetilde{P1})$, $(\widetilde{P2a})$ a $(\widetilde{P3})$.

Poté provedeme 500 simulací, přičemž v každé z nich vygenerujeme pozorování Y_i^* , pro $i = 1, \dots, n$ na základě zvolených parametrů a potom určíme oba typy intervalů spolehlivosti pro parametry d , e , t , MED_Δ . V každé jednotlivé simulaci tedy zkonstruuujeme pro $\alpha = 0,05$ intervaly IS_d^α , IS_e^α , IS_t^α , IS_Δ^α a také ISB_d^α , ISB_e^α , ISB_t^α , ISB_Δ^α . Pro bootstrap zde používáme v každé simulaci 1000 iterací.

Pro všechny simulace volíme vždy $d = 250$ a $n = 30$. V tabulce 3.6 lze nalézt ostatní zvolené parametry pro jednotlivé simulace a relativní pokrytí skutečných parametrů d , e , t , MED_Δ příslušnými asymptotickými intervaly spolehlivosti. V tabulce 3.7 potom uvádíme relativní pokrytí skutečných parametrů příslušnými bootstrapovými intervaly spolehlivosti při stejných podmínkách.

Pro obě metody dostáváme podobné hodnoty relativního pokrytí, přičemž nejmenší pokrytí většinou pozorujeme, když je bod změny na konci rozsahu dávek a při větším rozptylu.

Tabulka 3.6: Relativní pokrytí skutečných parametrů (v %) pro $d = 250$ a $n = 30$

Hodnoty parametrů				Asymptotická metoda			
e	σ^2	$t \cdot n$	Δ	IS_d^α	IS_e^α	IS_t^α	IS_Δ^α
-200	10	5	39,1	93,0	94,4	94,0	94,0
		15	37,5	93,8	94,0	93,8	93,4
		25	18,1	79,6	82,2	74,6	85,0
	1	5	39,1	93,8	93,8	93,0	94,0
		15	37,5	93,2	94,2	91,2	92,6
		25	18,1	94,0	97,0	87,4	94,8
-250	10	5	31,3	91,2	92,8	92,0	92,8
		15	31,3	93,6	95,0	93,0	93,6
		25	17,4	78,8	79,4	75,8	86,2
	1	5	31,3	94,0	94,0	92,8	92,0
		15	31,3	92,4	94,0	89,8	93,0
		25	17,4	92,6	96,8	86,0	93,6

Tabulka 3.7: Relativní pokrytí skutečných parametrů (v %) pro $d = 250$ a $n = 30$

Hodnoty parametrů				Metoda bootstrapu			
e	σ^2	$t \cdot n$	Δ	ISB_d^α	ISB_e^α	ISB_t^α	ISB_Δ^α
-200	10	5	39,1	91,4	92,6	93,8	93,8
		15	37,5	93,4	93,0	93,6	93,0
		25	18,1	79,4	77,8	77,2	81,8
	1	5	39,1	93,0	92,0	92,2	93,6
		15	37,5	91,8	92,6	91,2	91,6
		25	18,1	93,6	93,8	89,0	93,2
-250	10	5	31,3	90,6	90,8	92,0	92,6
		15	31,3	93,2	93,8	93,6	93,0
		25	17,4	79,2	75,2	79,8	82,8
	1	5	31,3	93,0	93,2	92,0	91,8
		15	31,3	91,4	91,2	88,4	92,6
		25	17,4	91,6	93,8	87,0	91,2

3.4 Modelování: Emax model postupné změny

V této podkapitole uvedeme další model s postupnou změnou odezvy popisující vztah mezi dávkou a odpovědí. Popíšeme odhad jeho parametrů a zaměříme se především na odhad dávky MED_{50} , přičemž pro ni budeme konstruovat také interval spolehlivosti a to pomocí bootstrapu.

Uvažujme tedy Emax model s postupnou změnou odezvy po dosažení předem neznámého bodu z definovaný následovně:

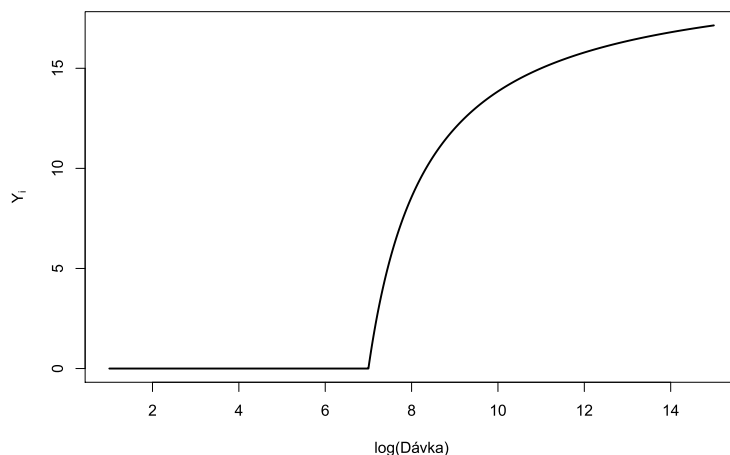
$$\begin{aligned} Y_i &= a + \epsilon_i, & \text{pro } 1 \leq i \leq z, \\ Y_i &= a + E_{max} \frac{d_i - d_z}{ED_{50} + d_i - d_z} + \epsilon_i, & \text{pro } z < i \leq n, \text{ kde} \end{aligned} \quad (3.71)$$

a , z , E_{max} , ED_{50} jsou parametry, $d_1 < d_2 \cdots < d_n$ označují jednotlivé dávky a ϵ_i jsou i.i.d residua s $E \epsilon_i = 0$, $\text{var } \epsilon_i = \sigma^2$. Dále předpokládáme, že $a \in \mathbb{R}$, $z \in [1, n]$, $E_{max} > 0$, $ED_{50} > 0$.

Na obrázku 3.14 vidíme tvar modelu (3.71) pro $n = 15$, $\mu = 0$, $E_{max} = 20$, $ED_{50} = 8,3$, $z = 7$ a $d_i = i$, pro $i \in [1, n]$. Jeho křivka je na rozdíl od kvadratického modelu vždy neklesající.

Poznamenejme, že v modelu (3.71) ovlivňuje parametr E_{max} škálu odezvy a parametr ED_{50} má vliv na rychlost jejího růstu za bodem změny z .

Obrázek 3.14: Emax model postupné změny



3.4.1 Odhad Emax modelu postupné změny

Předpokládejme, že pro známé $\delta > 0$ platí $z \in [1, n - \delta]$. Odhady parametrů a , E_{max} , ED_{50} a z modelu (3.71) můžeme získat opět pomocí metody nejmenších čtverců jako řešení \hat{a} , \hat{E}_{max} , \hat{ED}_{50} , \hat{z} minimalizační úlohy:

$$\begin{aligned} \min \sum_{i=1}^n (Y_i - a - E_{max} \cdot u_{i,z})^2, & \text{ kde} \\ u_{i,z} = \frac{d_i - d_z}{ED_{50} + d_i - d_z} \cdot \mathbb{I}(i > z). \end{aligned} \quad (3.72)$$

Označme $\beta = (a, E_{max})^T$ a

$$\mathbf{Y} = \begin{pmatrix} Y_1 \\ Y_2 \\ \vdots \\ Y_n \end{pmatrix}, \quad \mathbf{U}_k = \begin{pmatrix} 1 & u_{1,k} \\ \vdots & \vdots \\ 1 & u_{n,k} \end{pmatrix}, \quad \text{kde } k \in [1, n - \delta]. \quad (3.73)$$

Potom můžeme úlohu (3.72) přepsat jako:

$$\min_{\beta, k} (\mathbf{Y} - \mathbf{U}_k \beta)^T (\mathbf{Y} - \mathbf{U}_k \beta). \quad (3.74)$$

Po dosazení $\hat{\beta}(k, ED_{50}) = (\mathbf{U}_k^T \mathbf{U}_k)^{-1} \mathbf{U}_k^T \mathbf{Y}$ dostáváme minimalizační úlohu přes dvě dimenze (ED_{50} a k):

$$\min_{k, ED_{50}} \left\{ \mathbf{Y}^T \mathbf{Y} - (\mathbf{Y}^T \mathbf{U}_k (\mathbf{U}_k^T \mathbf{U}_k)^{-1} \mathbf{U}_k^T \mathbf{Y}) \right\}, \quad (3.75)$$

jejíž řešení odpovídá stejným hodnotám, které maximalizují:

$$(\hat{z}, \widehat{ED}_{50}) = \operatorname{argmax}_{k, ED_{50}} \mathbf{Y}^T \mathbf{U}_k (\mathbf{U}_k^T \mathbf{U}_k)^{-1} \mathbf{U}_k^T \mathbf{Y}. \quad (3.76)$$

Takto tedy získáme odhady \hat{z} , \widehat{ED}_{50} a poté vypočteme \hat{a} , \hat{E}_{max} jako:

$$\hat{\beta}(\hat{z}, \widehat{ED}_{50}) = \left(\hat{\mathbf{U}}_{\hat{z}}^T \hat{\mathbf{U}}_{\hat{z}} \right)^{-1} \hat{\mathbf{U}}_{\hat{z}}^T \mathbf{Y}, \quad \text{kde} \quad (3.77)$$

$$\hat{\mathbf{U}}_{\hat{z}} = \begin{pmatrix} 1 & \hat{u}_{1, \hat{z}} \\ \vdots & \vdots \\ 1 & \hat{u}_{n, \hat{z}} \end{pmatrix} \quad \text{a} \quad \hat{u}_{i, \hat{z}} = \frac{d_i - d_{\hat{z}}}{\widehat{ED}_{50} + d_i - d_{\hat{z}}} \cdot \mathbb{I}(i > \hat{z}). \quad (3.78)$$

Pro odhad rozptylu pak použijeme vztah:

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(Y_i - \hat{a} - \hat{E}_{max} \hat{u}_{i, \hat{z}} \right)^2. \quad (3.79)$$

Dávku MED_{Δ} nakonec odhadneme jako \hat{d}_{Δ} , kde:

$$\Delta = \hat{a} + \hat{E}_{max} \frac{\hat{d}_{\Delta} - d_{\hat{z}}}{\widehat{ED}_{50} + \hat{d}_{\Delta} - d_{\hat{z}}}, \quad \text{a tedy} \\ \hat{d}_{\Delta} = \frac{(\Delta - \hat{a})(\widehat{ED}_{50} - d_{\hat{z}}) + \hat{E}_{max} d_{\hat{z}}}{\hat{E}_{max} - \Delta + \hat{a}}. \quad (3.80)$$

Intervaly spolehlivosti ISB_a^{α} , ISB_{E}^{α} , ISB_{ED}^{α} , $ISB_{d_z}^{\alpha}$, $ISB_{\sigma^2}^{\alpha}$, ISB_{Δ}^{α} na hladině $1 - \alpha$ pro parametry a , E_{max} , ED_{50} , d_z , σ^2 , MED_{Δ} modelu (3.71) sestrojíme opět pomocí parametrického bootstrapu podobně jako v sekci 3.3.4.

3.4.2 Příklad

Příklad 6. Stejným způsobem jako v příkladu 3 (viz sekce 3.1.1) jsme otestovali další látku č. 144211040 a na základě tohoto testování jsme ji označili za aktivní. Opět bereme odezvu Y_i jako průměr ze třech pozorování pro každou dávku.

Nyní přejdeme přímo k odhadu modelu (3.71). K tomu používáme přístup popsany v sekci 3.4.1.

Na obrázku 3.15 vidíme odezvu při podání výše zmíněné látky, odhadnutý Emax model postupné změny a bootstrapový interval spolehlivosti pro MED_{Δ} , kde $\Delta = \frac{1}{2} \max_{i=1, \dots, 15} Y_i \doteq 12,3$. RSE je v tomto případě přibližně 1,8 a $\hat{d}_{\Delta} = 11,16$.

Dále jsme určili intervaly spolehlivosti pro jednotlivé parametry pomocí bootstrapu s 10 000 iteracemi. Výsledky pro $\alpha = 0,05$ shrnuje tabulka 3.8.

Tabulka 3.8: Odhady parametrů Emax modelu postupné změny pro látku č. 144211040

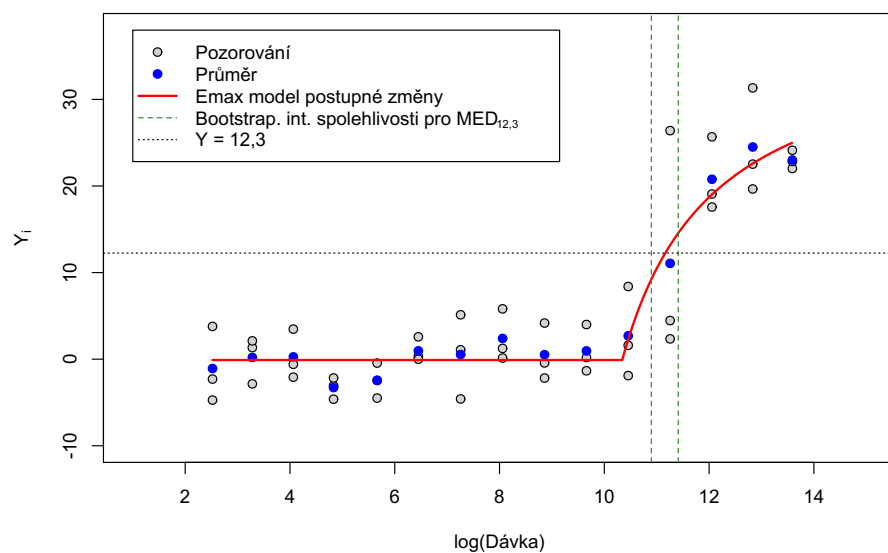
Parametr	Odhad	Bootstrap ISB_{\bullet}^{α}
a	-0,10	(-1,14; 0,93)
E_{max}	38,61	(24,37; 52,86)
ED_{50}	1,75	(0,17; 3,33)
d_z	10,34	(9,61; 10,74)
σ^2	2,77	(1,44; 4,83)
MED_{Δ}	11,16	(10,90; 11,41)

Pro porovnání použijeme pro stejnou látku číslo 144211040 také postup metody MCP-Mod. Na obrázku 3.16 pak vidíme výsledný odhad Sigmoid Emax modelu. RSE je v tomto případě přibližně 4,7 a $\log(\widehat{MED}_{\Delta}) \doteq 11,24$.

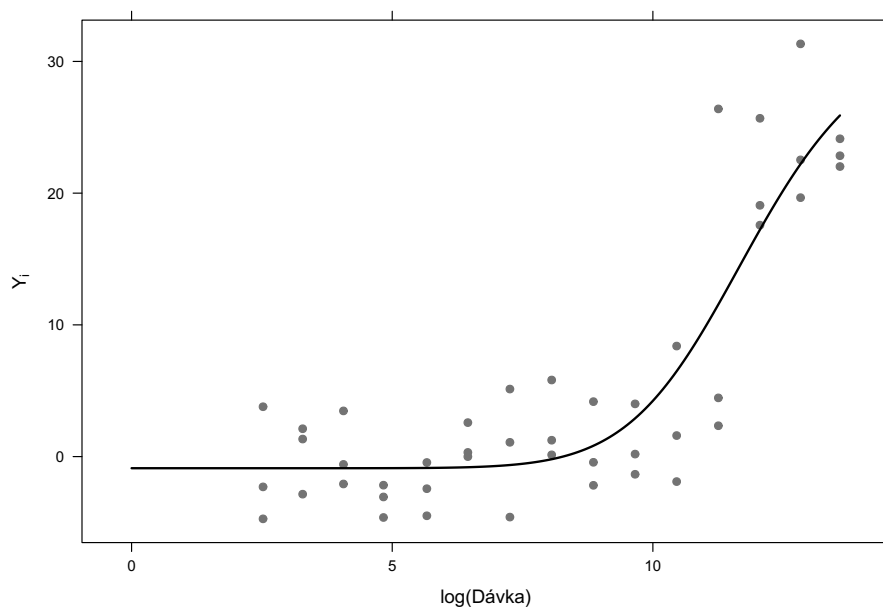
Oba uvedené modely podobně zachycují zvyšující se odezvu pro čtyři největší dávky, ale Emax model postupné změny se pro tuto látku jeví jako vhodnější.

Na obrázku 3.17 ještě uvádíme histogram nových odhadů pro dávku MED_{Δ} , které byly vypočteny při použití výše zmíněné metody bootstrapu.

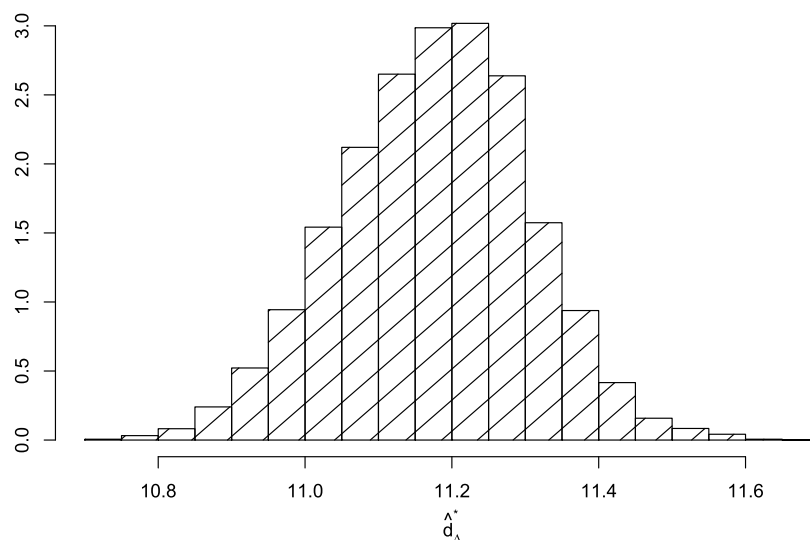
Obrázek 3.15: Odhad Emax modelu postupné změny pro látku č. 144211040



Obrázek 3.16: Odhad Sigmoid Emax modelu pro látku č. 144211040 pomocí metody MCP-Mod



Obrázek 3.17: Histogram odhadů \hat{d}_Δ^*



3.5 Shrnutí

V této kapitole jsme navrhli metodu, pomocí které lze nalézt vhodnou dávku léčiva s požadovanými účinky. Tento přístup se podobně jako MCP-Mod skládá ze dvou na sebe navazujících kroků, ale je založen na teorii modelů postupné změny.

V prvním kroku detekujeme celkovou závislost mezi dávkou látky a odpovědí. Na základě tohoto testování označíme danou látku buď jako aktivní či jako neaktivní.

Pro aktivní látky odhadneme ve druhém kroku vhodný model a určíme odhady příslušných parametrů včetně hledané dávky s požadovanými účinky. Navíc můžeme pro tyto veličiny zkonstruovat také bootstrapové či asymptotické intervaly spolehlivosti. Pomocí simulační analýzy jsme v konkrétních případech ukázali, který typ intervalů spolehlivosti je vhodnější a jaké mají tyto intervaly relativní pokrytí skutečných parametrů.

Tuto metodu lze použít pro případ, kdy očekáváme specifický tvar modelové křivky, konkrétně zvyšující se odpověď po dosažení bodu změny. Nakonec je vhodné ověřit příslušné předpoklady odhadnutých modelů podobně jako v regresní analýze.

4. Použití a porovnání metod na datech

V této kapitole aplikujeme metody popsané v sekci 2.3 a v kapitole 3 na reálná data a porovnáme výsledky.

4.1 Data

Vycházíme z informací a dat dostupných na veřejně dostupné webové adrese: NCBI, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/bioassay/720634>.

Data, která použijeme pro naši analýzu, pocházejí z amerického programu U.S. Tox21, který probíhá za spolupráce NCATS (National Center for Advancing Translational Sciences) a NTP (National Toxicology Program), více podrobností lze nalézt v článku Thomas et al. [2018]. Cílem programu Tox21 je vývoj metod k posuzování toxicity, a to tak, aby se rychle a účinně testovalo, zda určité chemické sloučeniny mají potenciál narušit procesy v lidském těle, což může mít negativní účinky na zdraví.

Konkrétně naše data obsahují měření MMP (mitochondriální membránový potenciál) v živých buňkách. MMP je jeden z parametrů mitochondriální funkce a je generován mitochondriálním elektronovým transportním řetězcem, který vytváří elektrochemický gradient řadou redoxních reakcí. Tento gradient řídí syntézu ATP, což je důležitá molekula pro mnoho buněčných procesů. Měření MMP v živých buňkách se běžně používá k posouzení vlivu chemikálií na mitochondriální funkci. Snížení MMP lze detekovat pomocí lipofilních kationtových fluorescenčních barviv.

Zkoumané buňky byly nejprve inkubovány na testovacích destičkách a poté se přidala příslušná testovaná sloučenina. Následně se přidala fluorescenční barviva a nakonec se kvantifikovala intenzita luminiscence na čtečce destiček. Všechny výsledky byly zaznamenány a sloučeniny byly rozděleny podle míry účinku na aktivní s vysokým účinkem, aktivní s částečným účinkem a neaktivní. Další detaily viz Attene-Ramos et al. [2015].

V rámci naší analýzy vybereme několik látek ze všech třech výše uvedených skupin a porovnáme výsledky testování aktivity na základě metody MCP-Mod a na základě modelů postupné změny. Poté se zaměříme především na látky označené jako aktivní, odhadneme pro ně příslušné modely a opět porovnáme výsledky.

Dávky jednotlivých látek jsou aplikovány v mikromolech, přičemž kvůli lepší interpretaci jsme tyto hodnoty zlogaritovali a odpověď jsme překlátili přes horizontální osu ($Y=0$).

Další podrobnosti lze dohledat na webové adrese <https://tox21.gov>.

4.2 Testování aktivity

Pro testování aktivity vybereme náhodně z datového souboru vždy 15 látek ze tří následujících skupin:

Aktivní 1: Aktivní látky s vysokým účinkem.

Aktivní 2: Aktivní látky s menším účinkem.

Neaktivní: Neaktivní látky.

Výsledky testování pomocí metody MCP-Mod a na základě modelů postupné změny na hladině $1 - \alpha = 0,95$ shrnuje tabulka 4.1, kde metody S2a, S2b, S4a, S4b odpovídají testování na základě modelu (3.1) s příslušnými testovými statistikami, viz sekce 3.1.1. Vidíme, že v případě testování aktivních látek jsou výsledky pro všechny metody velmi podobné. V případě neaktivních látek pozorujeme vyšší citlivost při určování aktivity v případě metod S2a, S2b oproti ostatním. To je pravděpodobně způsobeno dodatečným předpokladem pro parametr μ modelu (3.1).

Tabulka 4.1: Výsledky testování aktivity

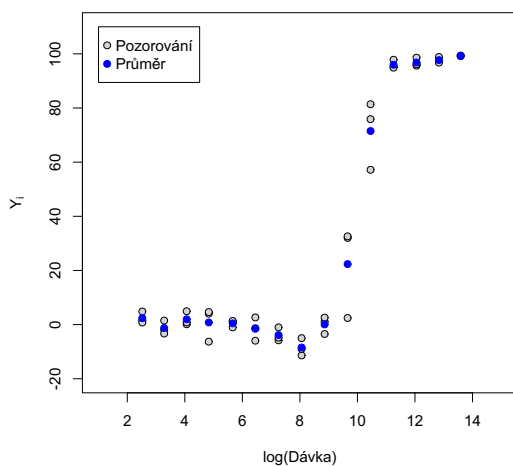
Skupina	Metoda testování	Počet testovaných látek	Počet látek vyhodnocených jako aktivní
Aktivní 1	MCP-Mod	15	15
	S2a		15
	S2b		15
	S4a		15
	S4b		15
Aktivní 2	MCP-Mod	15	15
	S2a		15
	S2b		15
	S4a		14
	S4b		14
Neaktivní	MCP-Mod	15	2
	S2a		6
	S2b		6
	S4a		2
	S4b		3

4.3 Odhad modelů pro aktivní látky

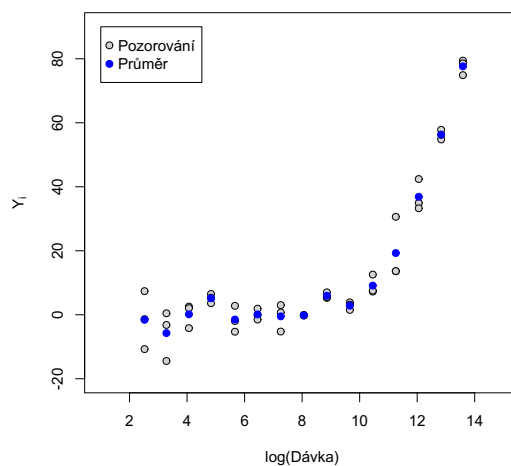
Pro odhad modelů jsme vybrali čtyři aktivní látky s odlišnou reakcí zkoumaných buněk. Jejich pozorování zachycuje následující obrázek 4.1. V našich datech lze tyto látky č. 1, 2, 3, 4 najít po řadě pod označením 144213707, 144212341, 144212321, 144214029.

Obrázek 4.1: Pozorované odpovědi pro vybrané aktivní látky

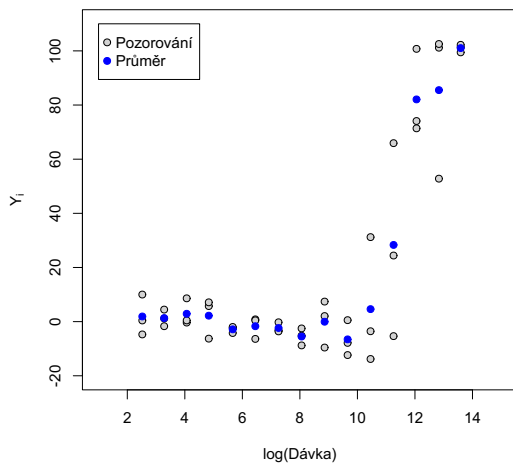
(a) Látka č. 1



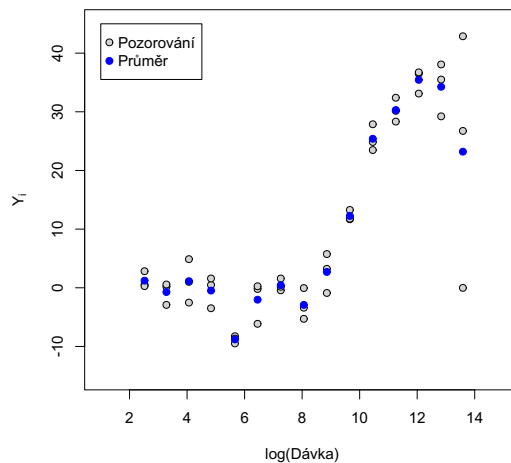
(b) Látka č. 2



(c) Látka č. 3



(d) Látka č. 4

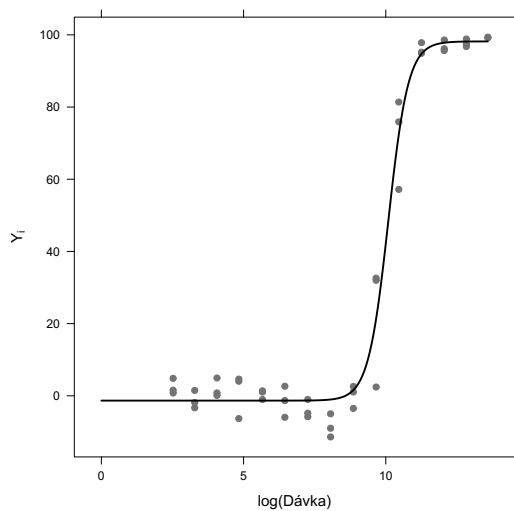


Odhad metodou MCP-Mod

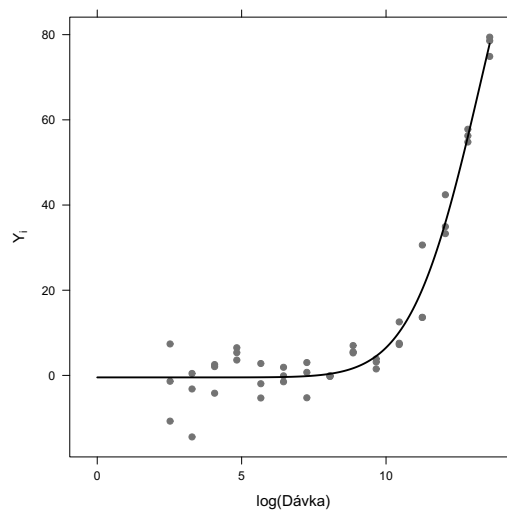
Obrázek 4.2 zachycuje modely odhadnuté pomocí metody MCP-Mod pro všechny vybrané látky.

Obrázek 4.2: Odhadnuté modely pomocí metody MCP-Mod

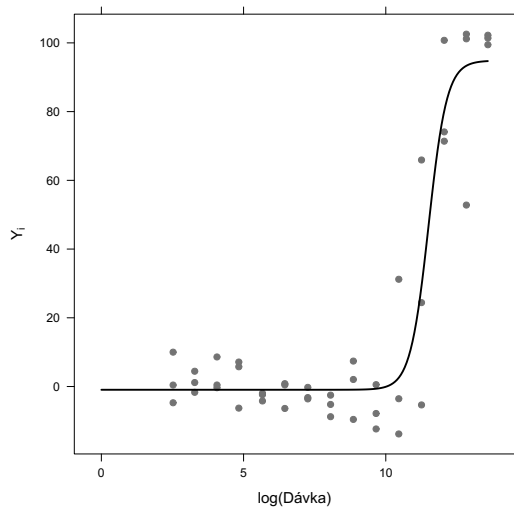
(a) Logistický model pro látku č. 1



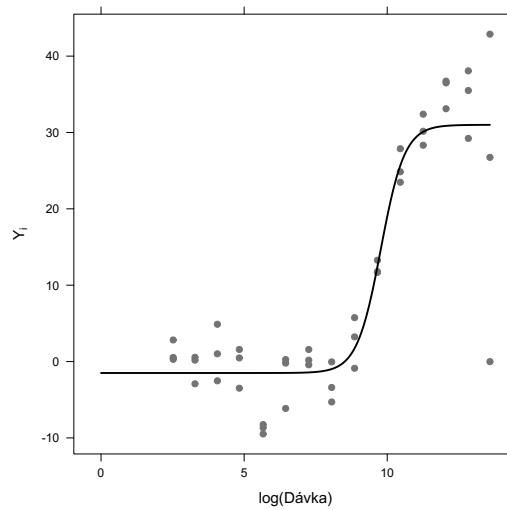
(b) Sigmoid Emax model pro látku č. 2



(c) Logistický model pro látku č. 3



(d) Logistický model pro látku č. 4

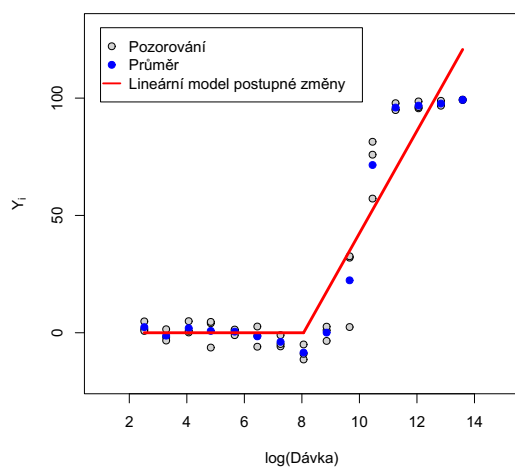


Odhad lineárního modelu postupné změny

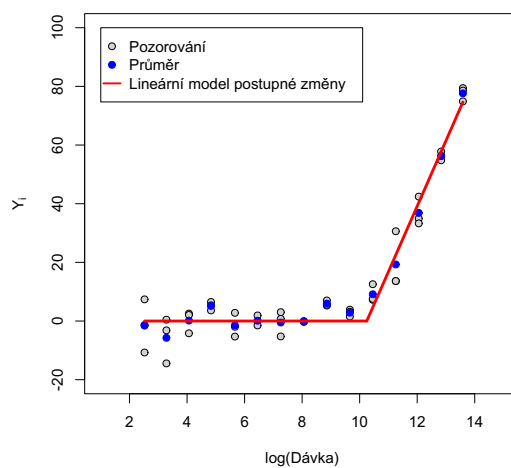
Obrázek 4.3 zachycuje odhadnuté lineární modely postupné změny pro všechny vybrané látky.

Obrázek 4.3: Odhadnuté lineární modely postupné změny

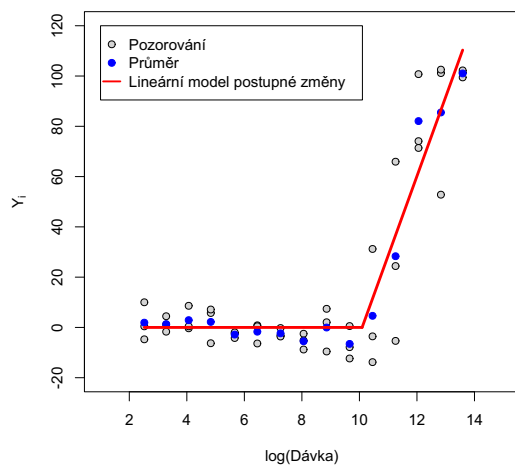
(a) Látka č. 1



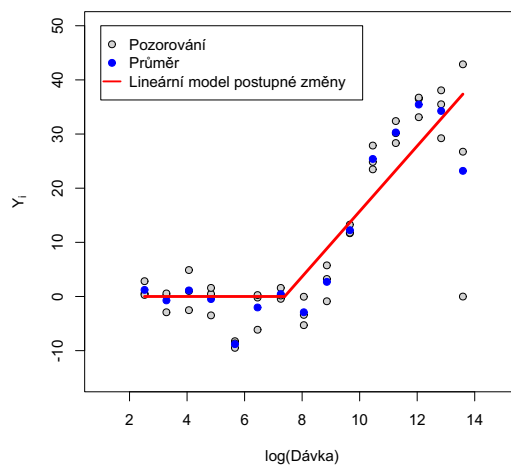
(b) Látka č. 2



(c) Látka č. 3



(d) Látka č. 4

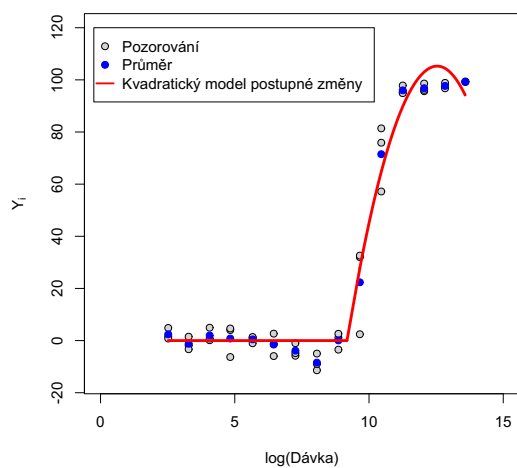


Odhad kvadratického modelu postupné změny

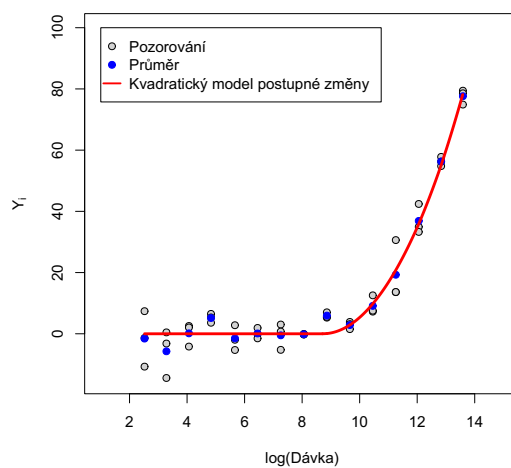
Obrázek 4.4 zachycuje odhadnuté kvadratické modely postupné změny pro všechny vybrané látky.

Obrázek 4.4: Odhadnuté kvadratické modely postupné změny

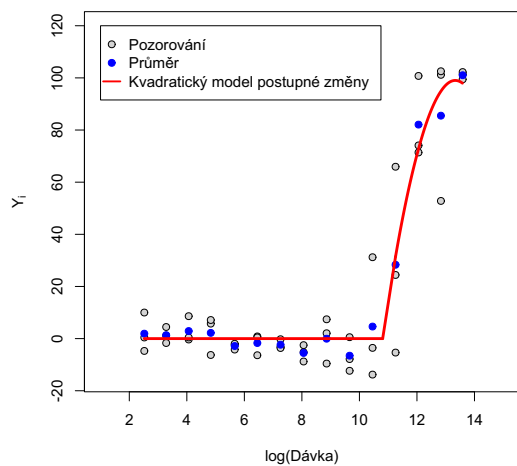
(a) Látka č. 1



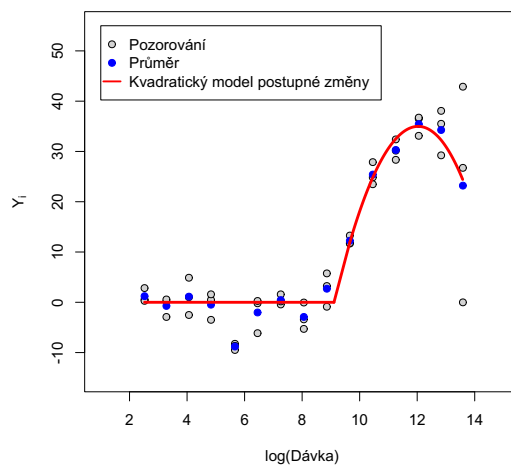
(b) Látka č. 2



(c) Látka č. 3



(d) Látka č. 4

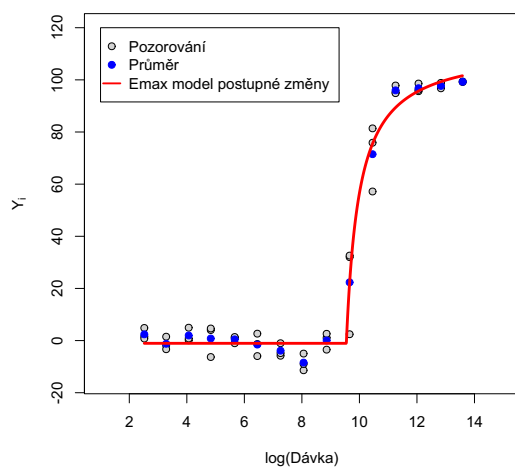


Odhad Emax modelu postupné změny

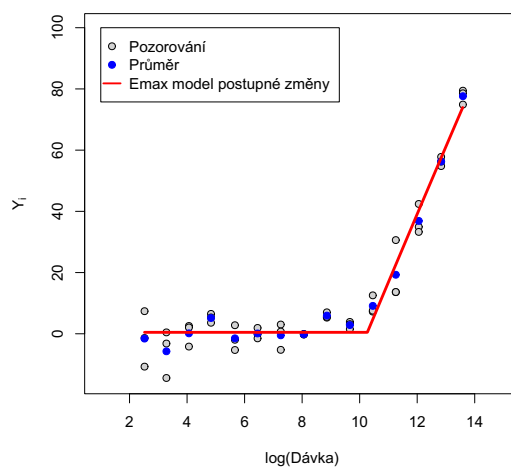
Obrázek 4.5 zachycuje odhadnuté Emax modely postupné změny pro všechny vybrané látky.

Obrázek 4.5: Odhadnuté Emax modely postupné změny

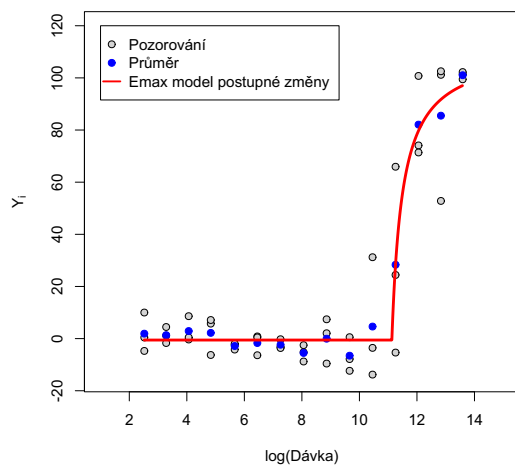
(a) Látka č. 1



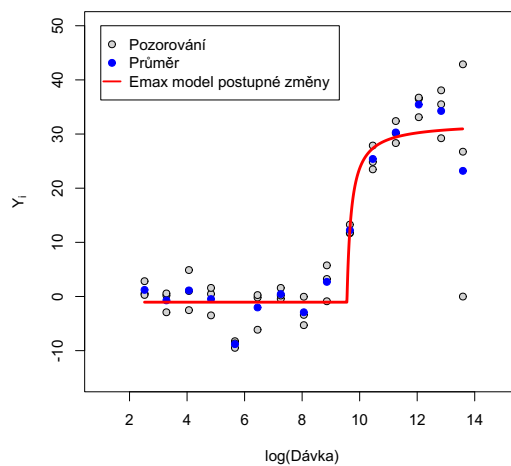
(b) Látka č. 2



(c) Látka č. 3



(d) Látka č. 4



4.4 Odhad MED

Tabulka 4.2 shrnuje výsledky modelování pro všechny vybrané látky, modely a předem zvolené Δ . Odhady MED_{Δ} a oba typy intervalů spolehlivosti jsou transformovány tak, aby jejich hodnoty odpovídaly horizontální ose na grafech uvedených výše a byly mezi sebou porovnatelné.

Poznámka. Zkratka PZ v tabulce 4.2 a dále značí, že se jedná o model postupné změny.

Tabulka 4.2: Odhady MED_{Δ} včetně intervalů spolehlivosti pro $\alpha = 0,05$

Látka	Model	RSE	Δ	$\log(\widehat{MED}_{\Delta})$	IS_{Δ}^{α}	ISB_{Δ}^{α}
1	MCP-Mod	6,0	50	10,09	-	-
	Lineární PZ	13,2		10,40	-	(9,93; 10,85)
	Kvadr. PZ	5,0		10,10	(10,05; 10,17)	(9,98; 10,25)
	Emax PZ	3,5		9,91	-	(9,80; 9,99)
2	MCP-Mod	4,8	40	12,21	-	-
	Lineární PZ	3,4		12,06	-	(11,92; 12,19)
	Kvadr. PZ	2,8		12,23	(12,17; 12,29)	(12,13; 12,39)
	Emax PZ	3,5		12,04	-	(11,92; 12,25)
3	MCP-Mod	13,1	50	11,53	-	-
	Lineární PZ	7,5		11,73	-	(11,50; 11,95)
	Kvadr. PZ	5,0		11,57	(11,51; 10,63)	(11,45; 11,70)
	Emax PZ	3,8		11,43	-	(11,32; 11,53)
4	MCP-Mod	6,3	20	9,97	-	-
	Lineární PZ	6,3		10,84	-	(10,12; 11,49)
	Kvadr. PZ	2,9		10,12	(10,02; 10,22)	(9,91; 10,36)
	Emax PZ	3,9		9,82	-	(9,64; 9,98)

4.5 Ověřování předpokladů

Před interpretací výsledků je nutné ještě ověřit platnost předpokladů všech odhadnutých modelů. Budeme postupovat podobně jako v regresní analýze, přičemž použijeme všechna původní pozorování.

Jako příklad budeme zkoumat platnost předpokladů na residua lineárního a Emax modelu postupné změny odhadnutého pro látku č. 1. Pro ostatní modely a látky postupujeme analogicky.

Na obrázku 4.6 vidíme Q-Q plot a residua v závislosti na dávce pro látku č. 1 a odhadnutý lineární model postupné změny. Pozorujeme jak problémy s normalitou tak problémy s heteroskedasticitou. RSE je přibližně 13,2.

Shapirův-Wilkův test zamítá v tomto případě na hladině 0,95 nulovou hypotézu o normalitě residuí, jelikož výsledná p-hodnota je přibližně 0,0419.

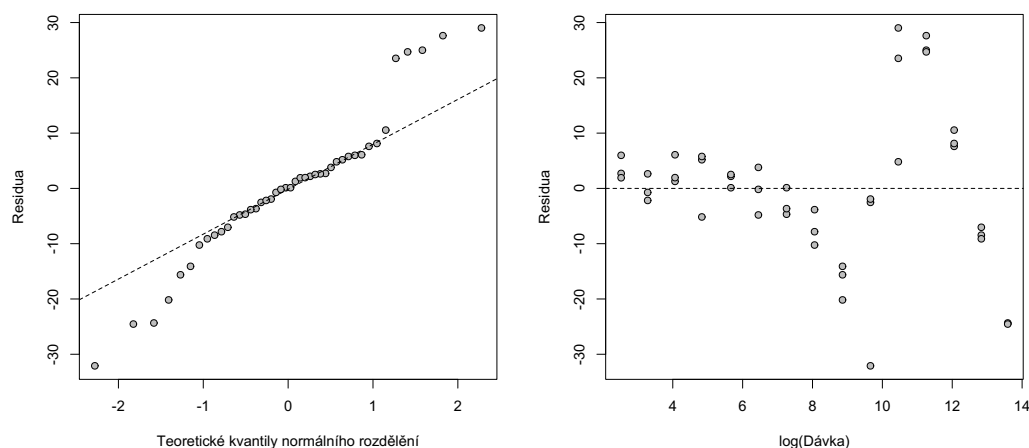
Durbinův-Watsonův test také zamítá na hladině 0,95 nulovou hypotézu o nekorelovanosti residuí, jelikož výsledná p-hodnota je přibližně 0,0009.

Nakonec Breuschův-Paganův test také zamítá na hladině 0,95 nulovou hypotézu o homoskedasticitě residuí, jelikož výsledná p-hodnota je přibližně 0,0018.

Obrázek 4.6: Analýza residuí lineárního modelu postupné změny pro látku č. 1

(a) Q-Q plot

(b) Residua



Na obrázku 4.7 vidíme Q-Q plot a residua v závislosti na dávce pro látku č. 1 a odhadnutý Emax model postupné změny. Zde nepozorujeme problémy s heteroskedasticitou. RSE je přibližně 3,5.

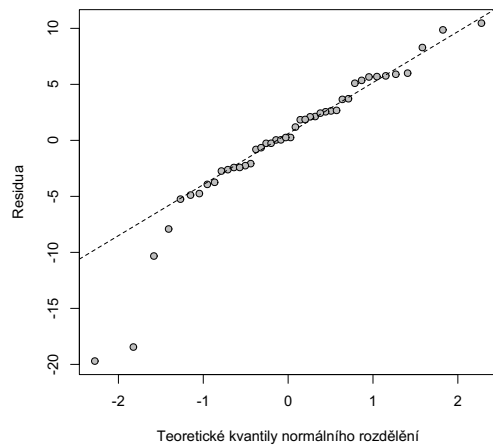
Shapirův-Wilkův test zamítá v tomto případě na hladině 0,95 nulovou hypotézu o normalitě residuí, jelikož výsledná p-hodnota je přibližně 0,0018.

Durbinův-Watsonův test zamítá na hladině 0,95 nulovou hypotézu o nekorelovanosti residuí, jelikož výsledná p-hodnota je přibližně 0,0086.

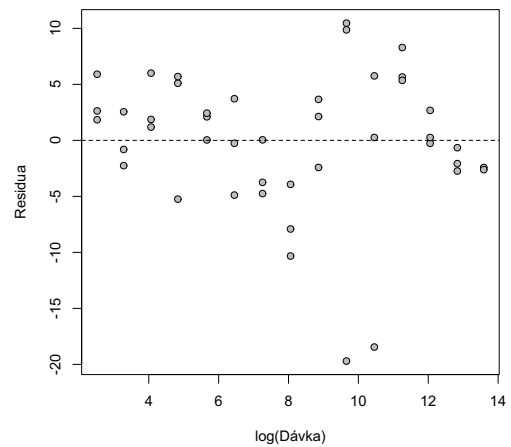
Nakonec Breuschův-Paganův test nezamítá na hladině 0,95 nulovou hypotézu o homoskedasticitě residuí, jelikož výsledná p-hodnota je přibližně 0,7354.

Obrázek 4.7: Analýza residuí Emax modelu postupné změny pro látku č. 2

(a) Q-Q plot



(b) Residua



Zamítnutí některých z výše uvedených hypotéz naznačuje, že tvar příslušného modelu není pro danou látku úplně vhodný. V takovém případě by bylo přínosné zlepšit model například přidáním dalších členů či použitím nějaké transformace vysvětlované proměnné.

Nicméně v případě látky č. 1 je vhodnější použít Emax model postupné změny pro odhad MED_{Δ} , jelikož má nejnižší hodnotu RSE a navíc pro něj nezamítáme hypotézu Breuschova-Paganova testu.

Tabulka 4.3 shrnuje výsledky testování residuí pro všechny vybrané látky a modely.

Tabulka 4.3: Výsledky testování residuí

Látka	Model	p-hodnota testů		
		Shapirův-Wilkův	Durbinův-Watsonův	Breuschův-Paganův
1	MCP-Mod	0,0087	0,0004	0,7734
	Lineární PZ	0,0419	0,0009	0,0018
	Kvadr. PZ	0,0058	< 0,0000	0,0078
	E _{max} PZ	0,0018	0,0086	0,7354
2	MCP-Mod	0,3813	0,0186	0,3219
	Lineární PZ	0,0717	0,0233	0,5859
	Kvadr. PZ	0,2530	0,0027	0,3140
	E _{max} PZ	0,0739	0,0188	0,6962
3	MCP-Mod	0,0005	0,0050	0,0616
	Lineární PZ	0,0280	0,0220	0,0142
	Kvadr. PZ	< 0,0000	0,0242	0,0055
	E _{max} PZ	0,0002	0,0027	0,0995
4	MCP-Mod	< 0,0000	0,5616	0,0941
	Lineární PZ	< 0,0000	0,2064	0,0130
	Kvadr. PZ	< 0,0000	0,1653	< 0,0000
	E _{max} PZ	< 0,0000	0,4603	0,0893

4.6 Shrnutí

V této kapitole jsme představili postup testování a odhadu různých modelů za účelem stanovení výsledné dávky MED_{Δ} pro čtyři různé aktivní látky. Záměrně byly vybrány látky s odlišnou reakcí pozorovaných buněk tak, abychom názorně demonstrovali, které modely jsou či nejsou pro konkrétní látku vhodné. V úvahu bereme všechny výše uvedené popisné charakteristiky a výsledky testování residuí.

Pro látku č. 1 se jeví jako nejvhodnější metoda MCP-Mod a E_{max} model postupné změny, kvůli malým hodnotám RSE a nezamítnutí hypotézy Breuschova-Paganova testu. Naopak lineární model nezachycuje dobře průběh odezvy.

Pro látku č. 2 jsou vhodné všechny uvedené modely, jelikož mají podobné hodnoty RSE a pro všechny modely nezamítáme hypotézy Shapirova-Wilkova ani Breuschova-Paganova testu.

Pro látku č. 3 se jeví jako nejvhodnější E_{max} model postupné změny, jelikož má nejnižší hodnotu RSE a nezamítáme pro něj hypotézu Breuschova-Paganova testu.

Nakonec pro látku č. 4 bychom zvolili kvadratický model postupné změny, kvůli nejnižší hodnotě RSE. Případně by bylo možné použít i MCP-Mod či E_{max} model postupné změny, jelikož pro ně navíc (kromě hypotézy Durbinova-Watsonova testu) nezamítáme hypotézu Breuschova-Paganova testu. Pro tuto látku opět není vhodné použít lineární model.

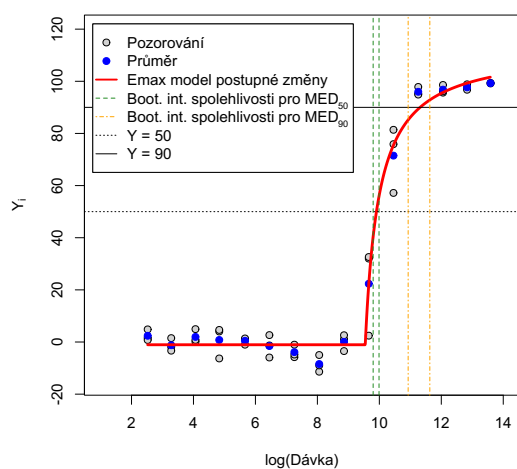
Vidíme, že při výběru výsledného modelu je nutno postupovat opatrně a zvážit více kritérií. Modely bychom mohli hodnotit například i podle AIC, BIC či adjR².

Výhodou použití modelů postupné změny oproti metodě MCP-Mod je navržený postup konstrukce asymptotických a bootstrapových intervalů spolehlivosti pro jednotlivé parametry modelu. Navíc lze sestavit i bootstrapové intervaly spolehlivosti pro MED_{Δ} a v případě kvadratického modelu postupné změny i asymptotický interval spolehlivosti pro MED_{Δ} . Naopak výhodou metody MCP-Mod je, že pracuje s širší množinou modelů.

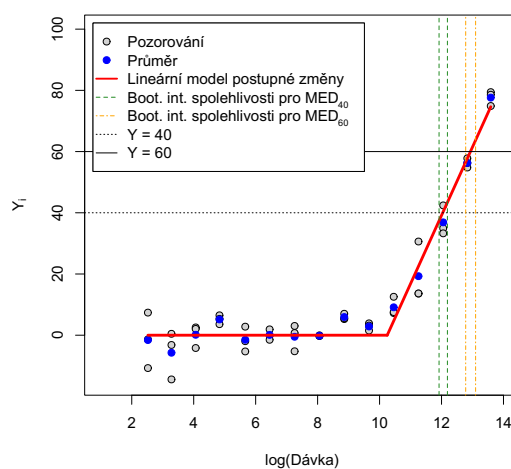
Obrázek 4.8 zachycuje pro každou látku odhad vybraného modelu postupné změny s bootstrapovými intervaly spolehlivosti pro MED_{Δ} s různě zvoleným parametrem Δ .

Obrázek 4.8: Odhadnuté modely postupné změny

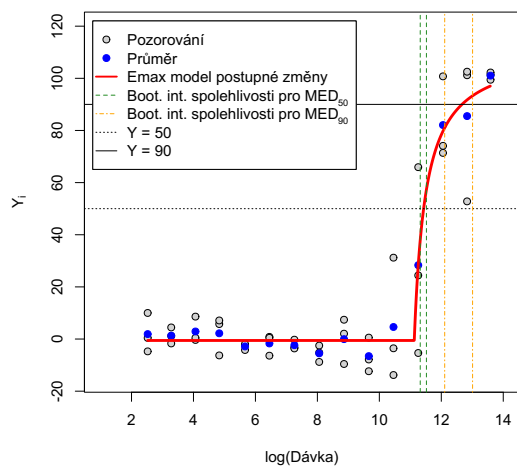
(a) Emax model pro látku č. 1



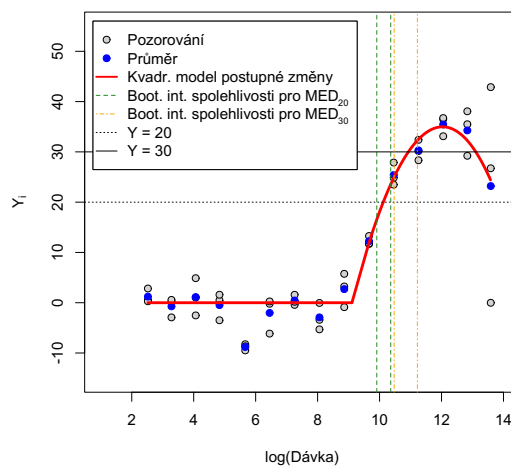
(b) Lineární model pro látku č. 2



(c) Emax model pro látku č. 3



(d) Kvadratický model pro látku č. 3



Závěr

V této práci jsme popsali proces výzkumu a vývoje nových léčivých látek včetně statistických metod používaných ke stanovení vhodných dávek léčiva. Většinou se nejprve hledají vhodné léčivé látky a zkoumá se, zda má podání daného léčiva signifikantní a dostatečně velký efekt. Pokud ano, přistoupí se k dalšímu testování a nakonec k odhadu dávky s požadovanými účinky. K tomu je zapotřebí prozkoumat vztah mezi dávkou léku a účinkem.

V první kapitole je, kromě tohoto procesu, uvedeno několik různých přístupů, které se dají použít při odhadu výsledné dávky.

Jedním ze současně používaných přístupů je metoda MCP-Mod, na kterou jsme se detailně zaměřili ve druhé kapitole. MCP-Mod spočívá ve dvou na sebe navazujících krocích. Nejprve se zkoumá účinek léku pomocí mnohonásobného porovnávání a poté se výsledná dávka určí na základě vybrané množiny modelů závislosti odpovědi na dávce.

Ve třetí kapitole jsme navrhli nový postup založený na teorii modelů postupné změny. Tyto modely zachycují odlišné chování odezvy po dosažení bodu změny. Nalézají uplatnění zejména v ekologii či meteorologii. Navržený postup opět nejprve testuje, zda má podání léku signifikantní účinek. Pokud ano, přistoupí se k odhadu výsledné dávky pomocí vhodného modelu. Konkrétně uvádíme odhad pomocí lineárního, kvadratického a Emax modelu postupné změny a popisujeme konstrukci asymptotických či bootstrapových intervalů spolehlivosti pro bod změny a ostatní parametry zmíněných modelů. Navíc lze ale sestavit i bootstrapové intervaly spolehlivosti pro dávku s požadovanými účinky (MED) a v případě kvadratického modelu postupné změny i asymptotický interval spolehlivosti pro MED.

Ve čtvrté kapitole jsme použili výše uvedené metody na veřejně dostupná data pocházející z výzkumného programu U.S. Tox21. Nakonec jsme porovnali výsledky použitých metod na několika testovaných látkách a názorně tak demonstrovali výhody jednotlivých metod.

Výhoda nově navržené metody oproti převzaté MCP-Mod spočívá ve stanovení intervalu spolehlivosti pro výslednou dávku a také pro bod změny. Výhoda metody MCP-Mod je, že pracuje s větší množinou různých modelů. Ukázali jsme, že použití modelů postupné změny je možné v případě, že pro menší dávky pozorujeme konstantní odpověď a při dosažení určité dávky nastává změna v jejím chování. Navržená metoda by se dala rozšířit o další modely a v případě potřeby by se mohly intervaly spolehlivosti pro MED konstruovat jako jednostranné. Modely postupné změny by také bylo možné použít jako další alternativní modely v rámci metody MCP-Mod.

Seznam použité literatury

- Matias S. Attene-Ramos, Ruili Huang, Sam Michael, Kristine L. Witt, Ann Richard, Raymond R. Tice, Anton Simeonov, Christopher P. Austin, and Menghang Xia. Profiling of the tox21 chemical collection for mitochondrial function to identify compounds that acutely decrease mitochondrial membrane potential. *Environmental Health Perspectives*, 123(1):49–56, 2015. doi: 10.1289/ehp.1408642.
- Björn Bornkamp. Comparison of model-based and model-free approaches for the analysis of dose-response studies. *Master's thesis, Fachbereich Statistik, Universität Dortmund*, pages 88–89, 2006.
- Björn Bornkamp, José Pinheiro, and Frank Bretz. Mcpmod: An r package for the design and analysis of dose-finding studies. *Journal of Statistical Software*, 7, 2009. doi: 10.18637/jss.v029.i07.
- F. Bretz, J. C. Pinheiro, and M. Branson. Combining multiple comparisons and modeling techniques in dose-response studies. *Biometrics*, 61(3):738–748, 2005. doi: 10.1111/j.1541-0420.2005.00344.x.
- Michael Budde and Peter Bauer. Multiple test procedures in clinical dose finding studies. *Journal of the American Statistical Association*, 84(407):792–796, 1989.
- M. Csörgö and L. Horváth. *Limit theorems in change-point analysis*. Wiley series in probability and statistics. Wiley, 1997.
- Georg Gutjahr and Björn Bornkamp. Likelihood ratio tests for a dose-response effect using multiple nonlinear regression models. *Biometrics*, 73, 2015. doi: 10.1111/biom.12563.
- Kevin Henning and Peter Westfall. Closed testing in pharmaceutical research: Historical and recent developments. *Statistics in Biopharmaceutical Research*, 7:126–147, 2015. doi: 10.1080/19466315.2015.1004270.
- Y. Hochberg and A. C. Tamhane. *Multiple Comparison Procedures*. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, 1987.
- Marie Hušková. Estimators in the location model with gradual changes. *Commentationes Mathematicae Universitatis Carolinae*, 39(1):147 – 157, 1998.
- Anastasia Ivanova, Changfu Xiao, and Yevgen Tymofyeyev. Two-stage designs for phase 2 dose-finding trials. *Statistics in medicine*, 31:2872–81, 2012. doi: 10.1002/sim.5365.
- Daniela Jarušková. Some problems with application of change-point detection methods to environmental data. *Environmetrics*, 8(5):469–483, 1997. doi: 10.1002/(SICI)1099-095X(199709/10)8:5<469::AID-ENV265>3.0.CO;2-J.
- Daniela Jarušková. Testing appearance of linear trend. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 70(2):263 – 276, 1998. doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-3758\(97\)00184-5](https://doi.org/10.1016/S0378-3758(97)00184-5).

- Daniela Jarušková. Change-point estimator in continuous quadratic regression. *Commentat. Math. Univ. Carol.*, 42(4):741–752, 2001.
- Daniela Jarušková and Jaromír Antoch. Detection of changes in time series and its application in ecology. *Pokroky Mat. Fyz. Astron.*, 47(4):307–323, 2002.
- Ruth Marcus, Eric Peritz, and K. R. Gabriel. On closed testing procedures with special reference to ordered analysis of variance. *Biometrika*, 63(3):655–660, 1976.
- Petr Míchal. Gradual change model. Praha, 2020. Diplomová práce (Mgr.). Univerzita Karlova, Matematicko-fyzikální fakulta, Katedra pravděpodobnosti a matematické statistiky. 2020.
- NCBI. *National Center for Biotechnology Information*. Source=824, AID=720634. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/bioassay/720634>.
- John O’Quigley, Alexia Iasonos, and Björn Bornkamp. *Handbook of Methods for Designing, Monitoring, and Analyzing Dose-Finding Trials: Handbooks of Modern Statistical Methods*. Chapman & Hall/CRC, 2017.
- José Pinheiro, Björn Bornkamp, and Frank Bretz. Design and analysis of dose-finding studies combining multiple comparisons and modeling procedures. *Journal of biopharmaceutical statistics*, 16:639–56, 2006. doi: 10.1080/10543400600860428.
- José Pinheiro, Björn Bornkamp, Ekkehard Glimm, and Frank Bretz. Model-based dose finding under model uncertainty using general parametric models. *Statistics in Medicine*, 33(10):1646–1661, 2014. doi: 10.1002/sim.6052.
- Kirsten Schorning, Björn Bornkamp, Frank Bretz, and Holger Dette. Model selection versus model averaging in dose finding studies. *Statistics in medicine*, 35, 2016. doi: 10.1002/sim.6991.
- Lenka Součková, Hana Kostková, and Regina Demlová. Jak se vyvíjí nový lék. *Practical pharmacy*, 11(4):144–147, 2015.
- Joan G. Staniswalis and Vanessa Cooper. Kernel estimates of dose response. *Biometrics*, 44(4):1103–1119, 1988.
- Adam Svobodník, Regina Demlová, and Ladislav Pecen. *Klinické studie v praxi (Clinical trials in practice)*. Facta Medica, Brno, Czech republic, 2014.
- Ajit Tamhane, Yosef Hochberg, and Charles Dunnett. Multiple test procedures for dose finding. *Biometrics*, 52:21–37, 1996. doi: 10.2307/2533141.
- Peter Thall and John Cook. Dose-finding based on efficacy-toxicity trade-offs. *Biometrics*, 60:684–93, 2004. doi: 10.1111/j.0006-341X.2004.00218.x.
- R. S. Thomas, R. S. Paules, A. Simeonov, S. C. Fitzpatrick, K. M. Crofton, W. M. Casey, and D. L. Mendrick. The us federal tox21 program: A strategic and operational plan for continued leadership. *ALTEX - Alternatives to animal experimentation*, 2(35):163–168, 2018. doi: 10.14573/altex.1803011.
- Ying Yuan and Guosheng Yin. Dose-response curve estimation: A semiparametric mixture approach. *Biometrics*, 67(4):1543–1554, 2011. doi: 10.1111/j.1541-0420.2011.01620.x.