MATHEMATISCH CENTRUM
AMSTERDAM

Statistische Afdeling.
Rapport S 62
door
Mej. A.M.J.Al Verbeek en
Dr J.Hemelrijk Jr.

Analgesieproeven op ratten.

1. Inleiding.

Teneinde de eventuele analgetische werking van een aantal therapeutica te toetsen, werden de volgende proeven opgesteld.
Van een groep ratten, waarvan wij mogen aannemen dat ze vergelijkbaar zijn wat betreft lichaamsgewicht, huidekleur ens. werd de staart blootgesteld aan bestraling door een lichtbron van constante energie. Na enige tijd treedt daarbij een pijnsensatie op, waarneembaar door beweging van de staart van het proefdier. De tijd verlopen tussen het begin van de bestraling en de reactie van het proefdier werd nu gemeten. Bij elke rat werden in de ochtend twee blanco waarnemingen verricht met tussenpozen van 2 minuten. Vervolgens werd 's middags de proef op dezelfde ratten herhaald, echter nu met voorafgaande toediening (per injectie 3/4 uur voor het begin van de proef of peroraal 1/2 uur voor het begin) van het te onderzoeken therapeuticum. Elk proefdier werd voor slechts één dergelijke reeks proeven gebruikt. De vraag was nu of uit de verandering van de reactietijd na toediening van het geneesmiddel t.o.v. de blanco waarnemingen geconcludeerd zou mogen worden dat het onderzochte therapeuticum analgetische eigenschappen bezit en of hiervoor een bepaalde maat zou zijn aan te geven (en of eventueel een gedeelte van het ene middel door een ander vervangen zou kunnen worden met behoud van de analgetische werking).

2. Proeven.

De te onderzoeken therapeutica werden per injectie of oraal in verschillende doseringen toegediend (zie bijlage 1) aan een groep proefdieren ieder bestaande uit 9 à 10 ratten, waarbij de volgende vragen ter beantwoording werden voorgelegd:

a) is er een analgetisch effect;
b) kan dit in een getal worden uitgedrukt;

c) kan er een verband worden aangegeven tussen dosis en effect.

In die gevallen waarbij de proefdieren twee therapeutica tegelijk kregen toegediend, werd tevens gevraagd:

d) of een deel van het ene geneesmiddel vervangen zou kunnen worden door het andere;

In die gevallen waarin dezelfde stof op twee verschillende manieren gegeven was, werd nog gevraagd:

e) een vergelijking te trekken tussen beide wijzen van toediening.

3. Statistische beschouwingen.

Uit de bijgevoegde literatuur bleek dat sommige onderzoekers een verschil in reactietijd tussen opeenvolgende blanco waarnemingen hadden geconstateerd, welk verschijnsel wij allereerst in het ons verstrekte materiaal nader onderzochten. Bij elk proefdier waren 2 blanco waarnemingen verricht. Met behulp van de tekentoets van R.A.Fisher (zie memorandum S 53 (M 22)) gingen wij bij het totale materiaal (835 ratten) na, of er een verschil te constateren was tussen de reactietijd van de 1e en 2e blanco bepaling. Het bleek nu dat bij een totaal van 835 waarnemingen in 490 gevallen de eerste reactietijd groter was dan de tweede en in 303 gevallen kleiner, terwijl een gelijke reactietijd in 42 gevallen voorkwam. Dit verschil is zeer duidelijk significant met een overschrijdingskans $k < 10^{-7}$, zodat de getoetste hypothese, inhoudende dat de reactietijden bij de eerste en tweede blanco waarneming dezelfde waarschijnlijkheidsverdeling bezitten, verworpen moet worden, hetgeen tot de conclusie leidt dat ratten, aan bovengenoemde proeven onderworpen, de tweede maal sneller op eenzelfde stimulans reageren dan de eerste maal.

Het leek nu noodzakelijk na te gaan of zich tussen de tweede en derde blanco bepaling weer een dergelijk verschijnsel zou voordoen. De mogelijkheid leek ook niet uitgesloten dat er tussen de tweede en volgende waarneming juist weer een stijging op zou treden, hetgeen bij het toedienen van een te onderzoeken therapeuticum na de 2e blancobepaling tot onjuiste conclusies zou kunnen leiden. Wij kregen, op verzoek, als controleproef een serie van 33 ratten waarbij van elk proefdier in

de ochtend 5 blanco waarnemingen waren verricht met een tussenpoze van 2 minuten en in de namiddag nog eens 3 met een tussenpoze van resp. 5 en 10 minuten. Hierbij bleek dat bij de eerste middagwaarneming een significant hogere reactietijd optrad dan bij de eerste en tweede ochtendwaarneming (de overschrijdingskansen met behulp van de symmetrietoets^{12} van J.Hemelrijk, zie memorandum S 47 (M 10), bedroegen resp. k = 0.02 en k = 0,002), hetgeen betekent dat de ratten 's middags, ook zonder toediening van enig analgeticum, op dezelfde stimulans trager reageren dan 's ochtends. Dit hield voor de genomen proeven grote en onaangename consequenties in. Indien n.l. bij beschouwing van de resultaten een significant verschil gevonden zou worden tussen de 1e of 2e blanco met de waarneming na toediening van het te onderzoeken therapeuticum, dan mag daaruit nog niet de conclusie getrokken worden dat dit verschil door de analgetische werking van de te onderzoeken stof werd veroorzaakt, aangezien er al een significant verschil bleek te bestaan tussen de ochtend blanco's en de eerste middagblanco zónder dat enig therapeuticum was toegediend.

Een tweede factor waarom o.i. uit de genomen proeven niet rechtstreeks geconcludeerd mag worden tot al of niet aanwezige analgetische eigenschappen van de onderzochte stoffen is het feit, dat naast deze proeven geen blanco waarnemingen werden verricht onder volkomen gelijke experimentele omstandigheden, met name, gelijktijdige inspuiting van een overeenkomstige groep proefdieren met het vehiculum van de injectie alleen. Mede in verband met de mogelijkheid, dat de door de injectie veroorzaakte pijn de pijndrempel verhoogt, lijkt ons een vergelijking met een groep proefdieren die géén injectie kregen, niet verantwoord. Daar de proeven ook niet gelijktijdig, d.w.z. onder dezelfde uitwendige omstandigheden zoals temperatuur, weersgesteldheid enz. waren uitgevoerd, is onderlinge vergelijking daarvan niet geheel betrouwbaar.

Gewaarschuwd door de bij de contrôleproef gevonden effecten, gingen wij nu over tot het <u>onderzoek van het eigenlijke proefmateriaal</u>. Om de reeds genoemde redenen (significant verschil tussen ochtend- en middagblanco, mogelijke verhoging van de pijndrempel door injectie,

verschillende uitwendige omstandigheden), kon een vertraagde reactie na toediening van de te onderzoeken stof niet zonder meer aan een analgetische werking daarvan worden toegeschreven. Er bleef o.i. geen andere weg over dan na te gaan of een hogere dosering een sterker effect tengevolge had dan een lagere dosering, daar op deze wijze een analgetische werking toch nog geconstateerd zou kunnen worden.

De vraag deed zich hierbij voor of ter bepaling van een eventuele stijging in reactietijd voor iedere rat de eerste, dan wel de tweede blanco bepaling t.o.v. de waarneming na injectie gebruikt moest worden. Daar het hier uiteindelijk om relatieve verschillen gaat, zouden beide te gebruiken zijn; wij kozen echter de tweede blanco bepaling omdat de spreiding hiervan bij de genoemde groep van 33 ratten, kleiner bleek te zijn dan van de eerste blanco; (s^2 = 5.65 bij de 1e blanco en s^2 = 3.65 bij de 2e blanco).

Ter bepaling van de te gebruiken toetsingsmethoden gingen wij allereerst over het gehele proefmateriaal na of de 2e blanco bepalingen te beschouwen waren als afkomstig uit een normale verdeling (zie Fig. 1). Uit de figuur blijkt een duidelijke scheefheid. De duidelijkheid van dit verschijnsel maakt gedetailleerde toetsing overbodig. Als gevolg hiervan is het gebruik van toetsingsmethoden, berustend op een normale verdeling, minder gewenst.

Vervolgens werd nog nagegaan of er mogelijk een verband bestond tussen de reactietijd bij de 2e blanco ("beginwaarde") en de stijging van de reactietijd na toediening van het te onderzoeken therapeuticum. Dit dient onderzocht te worden bij groepen ratten, die geheel dezelfde behandeling hebben ondergaan. Daarom werden de 3 groepen (m, n en p) van vel A, die allen 50 mgr/KGr kinine kregen toegediend, tezamen genomen (zie Fig. 2), eveneens de 5 groepen van vel B die allen 5 mgr/KGr morphine kregen (zie Fig. 3) en nog de 2 groepen van vel B die 7 mgr/KGr morphine kregen (zie Fig.4). Van enig verband tussen beginwaarde en verhoging van de reactietijd valt niets te constateren. Ook hier is gedetailleerde toetsing overbodig. De in de groep 7 mgr/KGr morphine voorkomende gevallen van totale analgesie manifesteren zich als punten op een rechte lijn,

de "afknottingslijn", in fig. 4. Dit resultaat maakt het overbodig speciale aandacht te wijden aan groepen met bijzonder hoge of lage beginwaarden.

Voor verder onderzoek van het materiaal is de toets van Wilcoxon wel het meest aangewezen (zie memorandum S 47 (M 7)). Bij toepassing van deze toetsingsmethode moet echter eerst worden nagegaan of de blanco waarnemingen ten opzichte waarvan de stijging in reactietijd wordt gemeten, bij de verschillende met elkaar te vergelijken groepen geen significant verschil vertonen. Is dit wel het geval dan is de toets niet zonder meer toe te passen, daar de twee groepen dan niet als gelijkwaardig kunnen worden beschouwd.
Bij alle verdere berekeningen werden, ook zonder nadere vermelding, de 2e blanco's van de met elkaar te vergelijken groepen tevoren met behulp van de toets van Wilcoxon hierop nader onderzocht. Verschilden de controlegroepen significant dan kunnen de proefgroepen niet met elkaar vergeleken worden, verschilden deze echter niet significant, dan werden de proefgroepen wel vergeleken.

Opmerking: Indien bij onderlinge vergelijking van de groepen blanco's van eenzelfde proef een enkele maal een significant verschil te voorschijn komt bij een uitgebreide groep vergelijkingen, dan is dit een normaal verschijnsel en is er dus geen reden om aan te nemen dat deze groep als niet tot dezelfde collectie behorende beschouwd moet worden. Waar dit voorkwam (bij proef I, vel A, éénmaal op de 27 toetsingen) hebben wij een dergelijke groep dus toch normaal in de berekeningen opgenomen.

4. Onderzoek proefmateriaal.

I. Vel A. Intraperitoneale toediening van kinine.

De resultaten van de vergelijking van verschillende doseringen kinine worden weergegeven in Tabel I.

Tabel I

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na kinine-injectie.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschrijdingskans (twee-zijdig)	resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr			
a	10	r	100	90	0.014 +	sign.
b	12.5	r	100	87.5	0.0003 +	"
c	15	r	100	85	0.044 +	"
d	20	r	100	80	0.001 +	"
e	25	r	100	75	0.02 +	"
f	30	r	100	70	0.004 +	"
(g+h)	35	r	100	65	0.03 +	"
j	40	r	100	60	0.60 +	niet sign.
(k+l)	45	r	100	55	0.002 +	sign.
(m+n+p)	50	r	100	50	0.0017 +	"
q	75	r	100	25	0.21 +	niet sign.
a	10	q	75	65	0.11 +	"
b	12.5	q	75	62.5	0.01 +	sign.
c	15	q	75	60	0.48 +	niet sign.
d	20	q	75	55	0.058 +	niet sign.
e	25	q	75	50	0.26 +	niet sign.
f	30	q	75	40	0.09 +	niet sign.
(g+h)	35	q	75	40	0.33 +	"
a	10	(m+n+p)	50	40	0.84 +	"
b	12.5	(m+n+p)	50	37.5	0.31 +	"

Uit bovenstaande tabel blijkt dat groep r (100 mgr/KGr) met alle lagere doseringen een significant verschil in werking vertoont behalve met groep j (40 mgr/KGr en groep q (75 mgr/KGr). (Wel lagen de waarden uit groep r hoger dan die uit groep j en q, doch niet significant hoger.) Bij vergelijking van groep q (75 mgr/KGr) met de lagere doseringen trad slechts bij vergelijking met groep b (12.5 mgr/KGr) een significant verschil aan het licht; echter was de gevonden overschrijdingskans bij vergelijking met groep d (20 mgr/KGr) slechts 0.058, dus juist op de grens, en lagen bij de groepen, waarbij geen significant verschil werd geconstateerd, de waarden uit groep q steeds aan de hoge kant t.o.v. de waarden van de lagere doseringen.

Bij verdere onderlinge vergelijking van diverse doseringen die minder dan 50 mgr/KGr verschilden, trad nergens meer significantie op.

Uit deze proefnemingen mogen wij dus concluderen dat kinine, onder genoemde proefomstandigheden aan ratten toegediend, een duidelijk analgetische werking heeft. In hoeverre bij een dosis van ± 50 mgr/KGr de werkzaamheid begint, kon uit dit proefmateriaal natuurlijk niet worden opgemaakt, aangezien wij steeds werkten met een dosisverschil t.o.v. lagere doseringen, die waarschijnlijk op zichzelf al enig effect hebben gehad, terwijl men bovendien niet zonder meer aan kan nemen dat de werking additief is.

Opmerking: Het aangeven van een minimum werkzame dosis is niet mogelijk zonder nadere precisering van dit begrip, ook niet bij een juiste proefopstelling. Wij komen hierop bij de algemene opmerkingen terug.

Van de drie ons gestelde vragen kunnen wij de eerste n.l. a) of er een analgetisch effect is, bevestigend beantwoorden. De tweede vraag n.l. b) of dit in een getal kan worden uitgedrukt, is uit dit materiaal wegens het ontbreken van parallel lopende blanco proeven echter niet te beantwoorden. Voor de beantwoording van de derde vraag n.l. c) of er een verband kan worden aangegeven tussen dosis en effect, bepaalden wij de mediaan van de stijging in reactietijd bij iedere groep ratten en maakten daarvoor een grafiek (Fig. 5); hetzelfde deden wij met de gemiddelden (Fig. 6). Hoewel niet zeer duidelijk, blijkt hieruit toch wel over de gehele linie een stijging van het effect met toenemende dosering. Gezien de grote fluctuaties bij de kleine dosisverschillen lijkt het ons op grond van de beschikbare gegevens echter niet mogelijk dit nader in een functioneel verband uit te drukken. Wel zou men de helling van de aangepaste rechte lijn kunnen schatten, echter niet het stuk dat deze van de y-as afsnijdt, daar het ontbreken van blanco proeven het bepalen van het nulpunt onmogelijk maakt. Bovendien is het zeer de vraag of hier een rechtlijnig verband verwacht mag worden, hetgeen ons, vooral in de hogere doseringen (waarvan slechts weinig waarnemingen zijn gedaan), niet waarschijnlijk lijkt. Ook deze derde vraag kunnen wij dus niet volledig beantwoorden.

Opmerking: Indien bij een bestraling van de staart van het proefdier na 15 sec. nog geen reactie was opgetreden, werd de proef gestaakt. Het uitblijven van een reactie ("totale analgesie") kwam bij de proeven met kinine slechts een enkele maal voor, bij het onderzoek van andere therapeutica echter soms zeer veelvuldig. In een dergelijk geval is de juiste reactietijd niet in een getal uit te drukken, hoogstens zou gezegd kunnen worden dat de reactietijd minstens met het verschil tussen 15 sec. en de gemeten 2e blanco reactietijd is vertraagd. Bij toepassing van de toets van Wilcoxon werd echter toch van dit verschil gebruikt gemaakt, daar een beter gegeven niet beschikbaar was. De onbetrouwbaarheidsdrempel wordt hierdoor niet beïnvloed, het onderscheidingsvermogen (d.i. de kans op het ontdekken van een inderdaad aanwezig verschil) echter wel; dat wil zeggen dat men, indien er veel gevallen van totale analgezie optreden, met de toets van Wilcoxon weinig meer kan beginnen. Men vergelijke de proeven onder II en de algemene opmerkingen in § 6.

II. Vel B. Intramusculaire toediening van morphine.

Bij vergelijking van de 2e blanco's van de verschillende groepen onderling, bleek het materiaal voor deze proef gebruikt niet zo homogeen te zijn als dat voor de kinineproef, met name kwamen er meerdere malen significante verschillen tussen de blanco groepen aan het licht. Aangezien de verschillende groepen ratten dus niet als uit eenzelfde populatie afkomstig te beschouwen waren, vergeleken wij verder alleen die groepen, die voldoende overeenstemming bleken te bezitten. De resultaten werden weergegeven in Tabel II.

Tabel II

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na morphine-injectie.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschrijdingskans	resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr			
(b+c+e)	5	(g+h)	7	2	0.15 +	niet sign.
(b+c)	5	j	8	3	0,0009 +	sign.

In de groep (b+c+e) = 30 waarnemingen kwam tweemaal totale analgesie voor, in de daarmede vergeleken groep (g+h) = 20 waarnemingen echter 7 maal. Indien uitsluitend gelet wordt op dit verschijnsel dan is het verschil (getoetst met de methode der 2 x 2-tabel; zie S 53 (M 23)) reeds significant met een overschrijdingskans k = 0.03. Zoals in Tabel II vermeld, blijkt er echter geen significant verschil bij vergelijking van beide groepen met de toets van Wilcoxon; wel lagen de waarden van de hogere dosering hoog t.o.v. de lagere dosering. De aanwijzing voor een verschil van analgetische werking tussen beide doseringen is hier dus wel aanwezig, maar zwakker dan in het tweede geval.
Wegens het veelvuldig voorkomen van totale analgesie in de doseringen van 7 mgr/KGr en hoger, is van een onderling vergelijken daarvan niet veel resultaat te verwachten. Bij een dosis van 10 mgr/KGr en hoger trad vrijwel steeds totale analgesie op. Hier werden dan ook geen significante verschillen meer gevonden.

Uit deze proeven kunnen wij dus concluderen dat morphine, onder bovenomschreven proefomstandigheden aan ratten toegediend, een duidelijk analgetische werking heeft in een dosis van 3 mgr/KGr boven een gronddosis van 5 mgr/KGr.

Opmerking: Indien van een geneesmiddel bekend is dat het analgetische eigenschappen bezit en het zeker is dat een verhoging van de dosering slechts een gelijkblijven van het effect of een versterking daarvan tot gevolg kan hebben (een werking in omgekeerde richting dus uitgesloten geacht mag worden), zou men bij statistische toetsing kunnen uitgaan van de hypothese dat de werking, indien aanwezig, slechts in een bepaalde richting plaats vindt en dus kunnen volstaan met een éénzijdige overschrijdingskans. Hierbij moet men dan echter bereid zijn eventueel optredende significanties in de tegengestelde richting als toevallige significanties te aanvaarden.

III. Vel C. Intraperitoneaal kinine +intramusculair morphine.

Hier werd bij vergelijking van de 2e blanco waarnemingen van de diverse groepen geen enkele significant verschil gevonden, zodat wij mogen aannemen, dat dit materiaal voldoende homogeen is ter verdere onderlinge vergelijking.

Bij beschouwing van de uitkomsten viel al dadelijk op dat bij een dosis van 5 mgr/KGr morphine + 35 mgr/KGr kinine en hoger, bij practisch alle proefdieren de reactie op de stimulans geheel uitbleef, terwijl het niet optreden van een reactie bij de lagere doseringen slechts sporadisch voorkwam. Ook leek het alsof de analgetische werkzaamheid van kinine, indien tevens 5 mgr/KGr morphine werd gegeven, reeds in kleinere doseringen aantoonbaar was dan indien kinine alleen werd ingespoten zoals bij de proeven onder I. Wij onderzochten deze suggesties weer nader met behulp van de toets van Wilcoxon. De resultaten zijn weergegeven in Tabel III.

Tabel III

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na morphine- en kinine-injecties.

Vergeleken doseringen kinine steeds werd tevens 5 mgr/KGr morphine toegediend.				verschil dosis kinine mgr/KGr	overschrijdingskans		resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr				
a	10	b	12.5	2.5	0.13	+	niet sign.
a	10	c	15	5	0.10	+	" "
a	10	d	20	10	0.24	+	" "
a	10	e	25	15	0.02	+	sign.
a	10	f	30	20	0.24	+	niet sign.
a	10	g	35	25	0.00002	+	sign.
a	10	h	40	30	0.00003	+	"
a	10	j	50	40	0.00002	+	"
f	30	g	35	5	0.002	+	"
f	30	h	40	10	0.007	+	"
d	20	g	35	15	0.0006	+	"
f	30	j	50	20	0.006	+	"
e	25	g	35	10	0.0003	+	"
c	15	d	20	5	0.55	-	niet sign.
d	20	e	25	5	0.25	+	" "
e	25	f	30	5	0.26	-	" "
c	15	e	25	10	0.74	+	" "
d	20	f	30	10	0.97	-	" "
c	15	f	30	15	0.46	-	" "
b	12.5	f	30	17.5	0.71	-	" "

Uit deze tabel blijkt dat kinine, onder bovenomschreven omstandigheden aan ratten toegediend in combinatie met 5 mgr/KGr morphine, nog niet duidelijk analge-

tisch werkzaam is in een dosisverschil van 20 mgr/KGr of lager, beneden een dosis van 5 mgr/KGr morphine + 30 mgr/KGr kinine. Wel trad significantie op bij vergelijking van groep a met groep e, d.i. bij een dosisverschil van 15 mgr/KGr. Daar echter bij vergelijking van andere groepen bij eenzelfde dosisverschil en ook bij een verschil van 17.5 en 20 mgr/KGr geen significanties meer optraden kunnen wij deze niet zonder meer als wezenlijk beschouwen in deze serie toetsingen. Wel echter gaf de overgang van een dosis van 30 mgr/KGr op 35 mgr/KGr kinine een overtuigend significant verschil, hetgeen voortdurend bij het passeren van de 30 mgr/KGr kinine in diverse combinaties aan het licht kwam. Het is duidelijk dat bij een basis van 5 mgr/KGr morphine + 30 mgr/KGr kinine een toevoeging van slechts 5 mgr/KGr kinine of meer, een overtuigend analgetische werking heeft, zodat het lijkt dat hier ergens een drempel gepasseerd is, hetgeen al direct uit het materiaal te zien was uit het aantal gevallen waarin totale analgesie optrad in de beide groepen. Bij doses kleiner dan 30 mgr/KGr kwam dit slechts in een enkel geval voor, bij 35 mgr/KGr en hoger in practisch alle gevallen. Dit verschijnsel is zo duidelijk, dat verdere toetsing ervan overbodig geacht mag worden. Het wijst ten sterkste op het bestaan van een drempel tussen de 30 en 35 mgr/KGr kinine intraperitoneaal ingespoten in combinatie met 5 mgr/KGr morphine intramusculair toegediend. Daar boven deze drempel in de hogere doseringen vrijwel steeds totale analgesie optrad, is van verdere onderlinge vergelijking van deze hoge doseringen geen resultaat te verwachten.

Van de gestelde vragen n.l. a) of, om een bepaald analgetisch effect te bereiken, een deel der morphine vervangen kan worden door kinine en b) welke morphine-kinine combinaties aequivalent zijn aan welke morphine-doseringen, kunnen wij de eerste bevestigend beantwoorden in dien zin, dat boven een bepaalde basis (5 mgr/KGr morphine + 30 mgr/KGr kinine) een kleine hoeveelheid kinine het analgetische effect versterkt, hetgeen ook te verwachten zou zijn van verdere toediening van morphine.

Weer wegens het ontbreken van gelijktijdige blancoproeven, waarbij de dieren zowel een intraperitoneale als een intramusculaire injectie kregen met het vehiculum, moeten wij echter het antwoord op de tweede

vraag geheel schuldig blijven.

Opmerking: Bij vergelijking van alle 2e blanco waarnemingen van vel A met die van vel C, bleken deze al significant te verschillen. Bij onderlinge vergelijking van de blanco's van de groepen ratten van vel B, traden herhaaldelijk significante verschillen op. Het proefmateriaal is dus blijkbaar weinig homogeen geweest zodat verdere onderlinge vergelijking van de proeven van vel A, B en C, ook daardoor belemmerd wordt.

IV. Vel D. Intraperitoneale toediening van Symoron.

Voor het onderzoek naar de eventuele analgetische werking van intraperiteneaal toegediende Symoron gelden dezelfde opmerkingen als gemaakt onder I, zodat wij hier kunnen volstaan met het vermelden van de resultaten (zie tabel IV).

Tabel IV

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na Symoron-injectie.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschr. kans	resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr			
a	2.5	l	9	6.5	0.31 +	niet sign.
a	2.5	k	8	5.5	0.16 +	" "
b	4	l	9	5	0.31 +	" "
a	2.5	j	7	4.5	0.50 +	" "
c	4.5	l	9	4.5	0.15 +	" "
e	5	l	9	4	0.23 +	" "
b	4	k	8	4	0.22 +	" "
f	5.5	l	9	3.5	0.57 -	" "
a	2.5	g	6	3.5	0.99 -	" "
g	6	l	9	3	0.20 +	" "

Uit bovenstaande tabel valt niet te concluderen dat Symoron, intraperitoneaal toegediend, analgetische eigenschappen bezit. Echter kwam het in de hogere doseringen enkele malen voor dat de reactie van het proefdier geheel uitbleef, bij een dosis van 9 mgr/KGr zelfs in 4 van de 10 gevallen. Dit wijst wel op analgetische werking. Daar hier weer alles vergeleken

moest worden t.o.v. de begindosis van 2.5 mgr/KGr is het misschien wel te verwachten, dat bij een juiste proefopstelling een analgetische werking voldoende duidelijk geconstateerd zou kunnen worden. Ook het feit dat tot een dosisverschil van 4 mgr/KGr de hogere doseringen, hoewel niet significant, toch steeds een grotere vertraging van de reactietijd vertoonden dan de lagere, wijst wel in de richting van een analgetisch effect. Deze analgetische werking is (althans in deze doses) echter zwakker dan die gevonden bij de proeven onder I en II.

Teneinde alsnog uit deze proeven een analgetische werking van Symoron te kunnen aantonen, vergeleken wij de groep (a+b+c) n.l. de ratten die 2.5, 4 of 4.5 mgr/KGr Symoron kregen toegediend met de groep (j+k+l) dus die welke 7, 8 of 9 mgr/KGr kregen ingespoten. Het verschil in vertraging van de reactietijd tussen de groep met lage doseringen en die met hoge doseringen bleek met behulp van de toets van Wilcoxon significant met een overschrijdingskans k = 0.016.

Wij kunnen uit deze proeven dus toch wel concluderen dat Symoron, intraperitoneaal toegediend, analgetisch werkzaam is.

V. Vel.E. Intramusculaire toediening van Symoron.

Bij vergelijking van het blanco materiaal bleek dit vrij heterogeen te zijn, zodat alleen die groepen onderling vergeleken konden worden waarvan de 2e blanco's niet significant verschilden. De resultaten zijn weergegeven in Tabel V

Tabel V

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na Symoron-injectie.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschr. kans		resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr				
b	1	k	4.5	3.5	0.065	+	niet sign.
a	0.5	h	3.5	3	0.005	+	sign.
b	1	j	4	3	0.026	+	"
c	2	k	4.5	2.5	0.036	+	"
a	0.5	g	3	2.5	0.09	+	niet sign.
(d+e)	2.5	k	4.5	2	0.02	+	sign.
c	2	j	4	2	0.063	+	niet sign.

Tabel V (vervolg)

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschr. kans	resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr			
b	1	g	3	2	0.052 +	niet sign.
(f+g)	3	k	4.5	1.5	1.0	" "
c	2	h	3.5	1.5	0.013 +	sign.
(d+e)	2.5	j	4	1.5	0.011 +	"
c	2	(f+g)	3	1.0	0.13 +	niet sign.
(d+e)	2.5	h	3.5	1.0	0.005 +	sign.
c	2	(d+e)	2.5	0.5	1.0	niet sign.
(d+e)	2.5	(f+g)	3	0.5	0.052 +	" "

Uit bovenstaande tabel blijkt dat Symoron, intramusculair toegediend, een duidelijk significante vertraging van de reactietijd teweeg brengt. Bij een dosis verschil van 1.5 mgr/KGr en hoger waren de overschrijdingskansen merendeels < 0.05 en allen < 0.10 (behalve bij vergelijking van groep (f+g) met groep k). Zelfs bij een kleiner verschil in dosering trad nog een keer significantie op. Wij mogen dus concluderen dat Symoron onder bovengenoemde omstandigheden intramusculair aan ratten toegediend, een duidelijke analgetische werking bezit. Ook hier geldt echter weer dat, wegens het ontbreken van overeenkomstige blanco proeven, geen verdere uitspraken gedaan kunnen worden betreffende verband tussen dosis en effect, enz.

Betreffende de vraag een vergelijking te trekken tussen beide groepen proeven onder IV en V kunnen wij opmerken, dat het wel mogelijk is overeenkomstige doses vervat in beide vormen van injectie met elkaar te vergelijken, echter is het wegens het ontbreken van overeenkomstige blanco's weer niet uit te maken in hoeverre de injectie nog een rol speelt, met name zou dit geen maat zijn voor de werkzaamheid van de op een bepaalde plek geïnjicieerde stof als zodanig.

De resultaten werden weergegeven in Tabel VI.

Opmerking: Bij vergelijking van de totale groep 2e blanco waarnemingen van vel D met die van vel E, bleken deze niet significant van elkaar te verschillen, zodat onderlinge vergelijking van beide proeven geen bezwaar opleverde.

Tabel VI

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na Symoron-injectie.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschr. kans		resultaat
intraperitoneaal		intramusculair					
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr				
D(a)	2.5	E(d+e)	2.5	-	0.76	-	niet sign.
D(b)	4	E(j)	4	-	0.03	+	sign.
D(c)	4.5	E(k)	4.5	-	0.01	+	"
D(c)	4.5	E(j)	4	0.5	0.0015	+	"
D(a)	2.5	E(c)	2	0.5	0.91	+	niet sign.
D(b)	4	E(h)	3.5	0.5	0.007	+	sign.
D(b)	4	E(f+g)	3	1	0.10	+	niet sign.
D(c)	4.5	E(h)	3.5	1	0.0006	+	sign.
D(b)	4	E(d+e)	2.5	1.5	0.94	-	niet sign.
D(d+e)	5	E(h)	3.5	1.5	0.02	+	sign.
D(f)	5.5	E(j)	4	1.5	0.71	-	niet sign.
D(g)	6	E(k)	4.5	1.5	0.02	+	sign.

Uit bovenstaande tabel blijkt dat Symoron intramusculair toegediend, sterker werkzaam is dan intraperitoneaal toegediend in een dosis van 4 mgr/KGr en in een dosis van 4.5 mgr/KGr. Bij een dosis van 2.5 mgr/KGr was geen verschil in werking tussen beide manieren van injiciëren te constateren.

Bij vergelijking van een zekere dosis Symoron intraperitoneaal toegediend met een kleinere dosis intramusculair toegediend, bleek deze laatste zelfs in verschillende combinaties nog duidelijk significant werkzamer dan de eerste, hetgeen ook te zien is bij beschouwing van de tabellen IV en V. In het eerste geval kon zelfs bij een verschil van 6.5 mgr/KGr boven een grondd sis van 2.5 mgr/KGr nog geen significante werking geconstateerd worden bij een groep van 10 ratten, in het tweede geval echter al bij een dosis verschil van 1.5 mgr/KGr boven een dosis van 2.0 mgr/KGr. Mogelijk zullen bij voortzetting van tabel VI nog meer significanties optreden.

VI. Vel F. Intramusculair Symoron + intraperitoneaal kinine.

Evenals reeds opgemerkt bij het onderzoek van morphine is een rechtstreeks antwoord op de hier gestelde vraag n.l. of een deel van de intramusculair toegediende Symoron te vervangen zou zijn door kinine, wegens

het ontbreken van overeenkomstige blanco proeven, uit dit materiaal niet mogelijk. Wij gingen dus weer na of er een werking was te constateren van kinine, in diverse doseringen gecombineerd met 0.5 mgr/KGr Symoron, ingespoten. De resultaten zijn weergegeven in Tabel VII

Tabel VII

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na Symoron- en kinine-injecties.

vergeleken doseringen						verschil dosis mgr/KGr	overschr. kans	resultaat
groep	dosis mgr/KGr		groep	dosis mgr/KGr				
	Symoron	kinine		Symoron	kinine			
a	0.5	50	c	0.5	100	50 kin.	0.14 +	niet sign.
b	0.5	75	c	0.5	100	25 kin.	0.48 +	" "
a	0.5	50	d	1.0	50	0.5 Sym.	0.012 +	sign.
a	0.5	50	e	4.5	50	4.0 Sym.	0.00001 +	"
d	1.0	50	e	4.5	50	3.5 Sym.	0.00001 +	"

Uit bovenstaande tabel valt niet te concluderen tot een analgetische werking van 50 mgr/KGr kinine of minde boven een gronddosis van 0.5 mgr/KGr Symoron + 50 mgr/KGr kinine.

De vraag of een deel van de Symoron vervangen kan worden door kinine is hiermede dus niet rechtstreeks opgelost. Bij de proeven onder I bleek bij een grotere groep ratten bij een dosisverschil van 50 mgr/KGr kinine boven een gronddosis van 50 mgr/KGr wel een significante vertraging van de reactietijd op te zijn getreden.

Een verschil van 0.5 mgr/KGr Symoron daarentegen gaf boven deze gronddosis wel een significant verschil, een groter dosisverschil n.l. 4 resp. 3.5 mgr/KGr Symoron gaf een volkomen overtuigend significant verschil.

Vergelijking met de in Tabel V samengevatte resultaten suggereert een versterking van de werking der Symoron door de intraperitoneaal toegediende kinine. Teneinde dit na te gaan vergeleken wij de resultaten van de vorige groep proeven (V) n.l. 0.5 mgr/KGr Symoron, met de hier verkregen resultaten, 0.5 mgr/KGr Symoron + + diverse doseringen kinine, evenzo die van 1 resp. 4.5 mgr/KGr Symoron + 50 mgr/KGr kinine. Tegen een dergelijke vergelijking was geen bezwaar omdat alle 2e blanco's van de proeven onder V voldoende overeenstemming bleken te bezitten met die van de proeven onder VI.

Echter moet hierbij nadrukkelijk worden opgemerkt dat de proefdieren in het eerste geval slechts één intramusculaire injectie kregen, in het tweede geval zowel een intramusculaire als een intraperitoneale injectie, zodat van de werking van de kinine als zodanig niets valt te zeggen.

De resultaten zijn weergegeven in Tabel VIII.

Tabel VIII

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en waarneming na injecties.

vergeleken doseringen					verschil dosis mgr/KGr	overschr. kans	resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr Symoron	dosis mgr/KGr kinine			
E(a)	0.5 Sym.	F(a)	0.5	50	50 kin.	0.60 +	niet sign.
E(a)	0.5 Sym.	F(c)	0.5	100	100 kin.	0.048+	sign.
E(b)	1.0 Sym.	F(d)	1.0	50	50 kin.	0.01 +	"
E(k)	4.5 Sym.	F(e)	4.5	50	50 kin.	0.005 +	"

Uit bovenstaande tabel blijkt dat 50 mgr/KGr kinine intraperitoneaal toegediend naast 0.5 mgr/KGr Symoron intramusculair ingespoten, geen significante werking vertoont, echter wel 100 mgr/KGr kinine.

Boven een dosis van 1 resp. 4.5 mgr/KGr Symoron is kinine echter al in een dosis van 50 mgr/KGr zeer duidelijk werkzaam. Verder vergelijkingsmateriaal was niet voorhanden.

Uit deze proeven kunnen wij dus weer indirect de conclusie trekken dat inderdaad, om een bepaald analgetisch effect te bereiken, een deel der intramusculair toegediende Symoron te vervangen zou zijn door intraperitoneaal toegediende kinine. Ook hier is echter weer wegens het ontbreken van overeenkomstige blanco proeven niet verder aan te geven welke Symoron-kinine combinaties aequivalent zijn aan welke Symoron-doseringen. Ook is daardoor niet verder na te gaan in hoeverre de injecties nog een rol spelen.

Opmerking: Bij de proeven onder I was al gebleken dat kinine, intraperitoneaal ingespoten, analgetische eigenschappen bezit. Deze zou dus een deel van de eveneens analgetisch werkzame intramusculair toegediende Symoron kunnen vervangen, mits deze elkaar niet tegenwerken. De hierboven weergegeven resultaten zijn nog eens een bevestiging hiervan.

VII. Vel G. Peroraal kinine.

Bij deze proeven werden, na 2 voorafgaande blanco-waarnemingen, na orale toediening van kinine nog 3 bepalingen verricht resp. 1/2, 1 en 1½ uur na toediening van de kinine. Hoewel hier geen injectie werd gegeven is het toch niet verantwoord een eventuele stijging van de reactietijd 1/2 uur na toediening van de kinine zonder meer als wezenlijk voor de analgetische werking daarvan te beschouwen, gezien de bij de contrôleproef geconstateerde significante stijging in reactietijd van de eerste middagwaarneming zonder dat enig therapeuticum was toegediend. Wij zullen hier dus weer moeten overgaan tot vergelijking van telkens een hogere dosis met een lagere. Een dergelijke vergelijking zou uitgevoerd kunnen worden telkens op overeenkomstige tijdstippen na toediening van de kinine; wij gingen echter eerst met behulp van de methode der m rangschikkingen (zie memorandum S 47 (M 6)) na, of er in deze opeenvolgende waarnemingen mogelijk een zeker verloop zat, met name of er, na toediening van de kinine, een duidelijk verband te voorschijn kwam tussen volgorde en grootte van de reactietijd bij de proefdieren. Bij samenvoeging van alle proeven met diverse doseringen kinine was dit echter niet duidelijk (overschrijdingskans k = 0.09); ook bleek hiervan niets wanneer alleen bij de groep van 20 ratten die allen de hoogste dosering n.l. 220 mgr/KGr kinine kregen toegediend, de op de 3 tijdstippen verrichte waarnemingen onderling vergeleken werden. De analgetische werking van de kinine, indien aanwezig, manifesteert zich dus niet duidelijk verschillend op de verschillende waarnemingstijdstippen, zodat het verantwoord is de drie waarnemingen na toediening van de kinine voor ieder der ratten tezamen te nemen, het gemiddelde hiervan te verminderen met de 2e blanco-bepaling en de zo verkregen verschillen voor de verschillende doseringen onderling te vergelijken. Wel lagen de waarnemingen verricht op het tijdstip 1/2 uur na toediening van de kinine aanmerkelijk hoger dan die welke 1 resp. 1½ uur na kinine toediening waren verricht, echter niet significant hoger. Daar dit verschijnsel zich ook al voordeed bij de contrôlegroep, waar het verschil tussen 1e en 2e middagwaarneming zelfs duidelijk significant was (de tijd tussen 1e en 2e waarneming was hierbi

echter slechts 5 minuten), kan het hoger liggen van de 1e waarneming niet zonder meer aan de werkzaamheid van de kinine worden toegeschreven.

De resultaten van de vergelijkingen werden opgenomen in tabel IX, waarin volledigheidshalve (en wellicht ten overvloede) de overeenkomstige resultaten voor het tijdstip 1/2 uur na toediening van de kinine ook nog afzonderlijk worden vermeld, rekening houdende met de mogelijkheid dat, door het gemiddelde te nemen van de 3 waarnemingstijdstippen, een eventueel effect op korte termijn toch nog verdoezeld zou kunnen worden.

Tabel IX

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en gemiddelde van waarneming op de 3 gemeten tijdstippen en van waarneming op tijdstip 1/2 uur na toediening kinine.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschr.kans		resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr		1/2 uur	gemidd.	
a	80	(l+m)	220	140	0.33 +	0.57 +	niet sign.
b	100	(l+m)	220	120	0.027 +	0.025 +	sign.
c	120	(l+m)	220	100	1	0.69 +	niet sign.
d	140	(l+m)	220	80	1	0.60 -	" "
a	80	(e+g)	160	80	0.52 +	0.49 -	" "
c	120	(j+k)	200	80	0.61 +	0.55 +	" "

De resultaten in bovenstaande tabel opgenomen wijzen niet op een analgetische werking van oraal toegediende kinine in een dosisverschil van 140 resp. 100 en 80 mgr/KGr boven een dosis van 80, 120 of 140 mgr/KGr. Bij vergelijking van groep b met groep (l+m) trad weliswaar significantie op; het lijkt ons echter niet verantwoord deze significantie als wezenlijk te beschouwen, daar zowel bij een dosisverschil van 140 mgr/KGr boven de 80 mgr/KGr als bij een verschil van 100 mgr/KGr boven 120 mgr/KGr geen enkele aanwijzing in deze richting te vinden is. Bij nadere beschouwing bleek groep b ook vrij laag te liggen. Bovendien trad bij deze gehele serie proeven nergens totale analgesie op. De mogelijkheid bestond echter dat bij samenvoeging van de groepen met hoge dosering een vergelijking daarvan met de samengevoegde groepen met lage dosering, nog enig effect aan het licht zou komen. Wij vergeleken daartoe de groepen (a+b+c+d) met de groepen (j+k+l+m) met behulp van de toets van Wilcoxon, waarbij een overschrij-

dingskans werd gevonden van $k = 0.17$. Ook bij vergelijking van de beide groepen met de hoogste dosering met de beide groepen met de laagste dosering, bleek het verschil nog niet significant te zijn ($k = 0.07$).

Wij kunnen uit bovenstaande proeven dus niet concluderen tot een analgetische werking van oraal toegediende kinine.

Gevraagd wordt nog een vergelijking te trekken tussen de proeven onder I en VII n.l. kinine resp. intraperitoneaal en oraal toegediend. Een directe vergelijking is echter niet mogelijk, daar de proefdieren in het eerste geval een injectie kregen en in het tweede geval niet. Bovendien werd bij I een waarneming gedaan 3/4 uur na toediening van de kinine en bij VII resp. 1/2, 1 en 1 1/2 uur daarna, dus niet op overeenkomstige tijdstippen. Om een globale indruk te krijgen zou men eventueel in het 2e geval het gemiddelde van de waarnemingen na 1/2 en 1 uur kunnen nemen, temeer daar er geen significant verschil in werking op deze beide tijdstippen geconstateerd kon worden, echter is het effect van de overgang van de 2e ochtendblanco op de 1e middagbepaling dan weer niet gelijkelijk ~~xxxxx xxxxxx~~ in beiden vervat. Om de genoemde redenen lijkt ons een rechtstreeks vergelijken van de proeven onder I en VII geen zin te hebben.

Uit de onder I en VII vermelde resultaten blijkt echter wel dat de intraperitoneale toediening een veel sterkere werking bezit dan de perorale, waarvan wij geen werking konden vaststellen.

VIII. Vel H. Peroraal salicylamide.

Hiervoor gelden dezelfde opmerkingen als onder VII, zodat wij kunnen volstaan met vermelding van de vergelijking der verschillende doses welke in Tabel X zijn opgenomen. Met behulp van de methode der n rangschikkingen kon weer geen verband geconstateerd worden tussen volgorde en grootte van de reactietijd gemeten op de tijdstippen 1/2, 1 en 1 1/2 uur na toediening van de salicylamide, zodat de verschillen van het gemiddelde hiervan en de 2e blanco-bepaling vergeleken werden voor verschillende doseringen.

Tabel X

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en gemiddelde van waarnemingen op de 3 gemeten tijdstippen en met waarneming op tijdstip 1/2 uur na toediening salicylamide.

vergeleken doseringen				verschil dosis mgr/KGr	overschr.kans		resultaat
groep	dosis mgr/KGr	groep	dosis mgr/KGr		1/2 uur	gemidd.	
a	50	d	80	30	0.004 +	0.0006 +	sign.
b	60	d	80	20	0.043 +	0.015 +	"
a	50	b	60	10	0.71 +	0.66 +	niet sign.
b	60	c	70	10	0.30 -	0.77 -	" "

Uit bovenstaande tabel blijkt dat salicylamide oraal toegediend in een dosis van 20 mgr/KGr en hoger, boven een dosis van 60 resp. 50 mgr/KGr, duidelijk analgetisch werkzaam is. Bij een verschil van 10 mgr/KGr was hiervan niets meer te merken.

Wij mogen dus concluderen tot een duidelijk analgetische werking van salicylamide oraal toegediend.

Opmerking: Bij deze proeven kwam het nergens voor dat de reactie van het proefdier geheel uitbleef.

IX. Vel I. Peroraal salicylamide + kinine.

Hoewel bij de proeven onder VII na orale toediening van kinine zelfs bij een dosisverschil van 140 mgr/KGr geen analgetische werking was te constateren, zou het mogelijk zijn dat, indien tevens salicylamide werd gegeven, de kinine in kleinere dosering het effect hiervan zou blijken te versterken. Daarom werden de groepen proefdieren die allen 35 mgr/KGr salicylamide hadden gekregen met opklimmende dosis kinine, onderling vergeleken. Ook bij deze proeven kon geen correlatie tussen volgorde en grootte van de reactietijd op de verschillende tijdstippen na toediening van het therapeuticum worden geconstateerd met behulp van de methode der m rangschikkingen, zodat weer de verschillen tussen het gemiddelde van de waarden op de 3 tijdstippen en de 2e blanco bepaling voor ieder der ratten voor diverse doseringen vergeleken werden.

De resultaten hiervan en tevens van de berekeningen op het tijdstip 1/2 uur na toediening van het analgeticum, zijn vermeld in Tabel XI.

Tabel XI

Vergelijking der verschillen tussen 2e blanco en gemiddelde van waarnemingen op de 3 gemeten tijdstippen en met waarneming op tijdstip 1/2 uur na toediening salicylamide + kinine.

vergeleken combinaties groep	dosis mgr/KGr K.	S.	groep	dosis mgr/KGr K.	S.	verschil dosis mgr/KGr K.	S.	overschr.kans ½uur	gemidd.	resultaat
b	40	35	a	50	35	10	-	0.46 +	0.33 +	niet sign.
c	30	35	b	40	35	10	-	0.97 -	0.85 -	" "
c	30	35	a	50	35	20	-	0.29 +	0.30 +	" "
a	50	35	(d+e)	50	50	-	15	0.51 -	0.45 -	" "
H(a)	-	50	I(d+e)	50	50	50	-	0.15 +	0.10 +	" "

(H(a) is groep a van vel H; I(d+e) is de groep (d+e) van vel I.)

Uit bovenstaande tabel zijn geen positieve conclusies te trekken.

Teneinde na te gaan of een deel der salicylamide te vervangen zou zijn door kinine, kunnen de proeven onder VIII en IX samen vergeleken worden, aannemende dat de onder gelijke omstandigheden werden verricht en indien de 2e blanco's voldoende overeenstemming vertonen. Bij vergelijking van alle 2e blanco's van de proeven onder VIII met die van de proeven onder IX met behulp van de toets van Wilcoxon, bleek hiertussen geen significant verschil te bestaan. Het is dus verantwoord de diverse groepen ratten van vel H en I onderling te vergelijken voor zover deze wat hun 2e blanco betreft niet significant verschillen. Voor een juiste beoordeling van de werking van de kinine is het echter gewenst de gronddosis salicylamide in beide gevallen gelijk te nemen. Dit was slechts mogelijk bij vergelijking van groep a van vel H met groep (d+e) van vel I, waarvan het resultaat in Tabel XI werd opgenomen. Hierbij bleek dat een dosis van 50 mgr/KGr kinine tezamen met 50 mgr/KGr salicylamide toegediend, nog geen significante versterking van de analgetische werking daarvan teweeg brengt. Van verdere onderlinge vergelijking van de groepen proefdieren voor beide proeven gebruikt is geen resultaat meer te verwachten. De vraag of een deel der salicylamide vervangen zou kunnen worden door kinine,

is uit deze proeven dus niet bevestigend te beantwoorden.

5. Conclusies.

a) Ratten, onder bovenomschreven proefomstandigheden aan een lichtstimulans blootgesteld, reageren de tweede maal (tussenpose van opeenvolgende waarnemingen 2 min.) sneller op deze stimulans dan de eerste maal.

Bij een controlegroep bleek er tussen de eerste middag-blanco waarneming en de eerste en tweede ochtend-blanco waarneming een significant verschil te bestaan, met name reageerden de ratten des middags trager op eenzelfde stimulans dan 's ochtends (~~overschrijdingskans 1 resp.~~

b) Intraperitoneaal toegediende kinine heeft bij ratten een duidelijk analgetische werking. Uit de genomen proeven is echter, wegens het ontbreken van blanco-bepalingen onder gelijke proefomstandigheden verricht, geen functioneel verband aan te geven tussen dosis en effect en kan de werking ook niet nader in een getal worden uitgedrukt.

c) Intramusculair toegediende morphine is duidelijk analgetisch werkzaam. Hiervoor gelden dezelfde opmerkingen als onder b).

d) Indirect kan geconcludeerd worden dat, om een bepaald analgetisch effect te bereiken, een deel der intramusculair toegediende morphine vervangen kan worden door intraperitoneaal toegediende kinine. De vraag welke morphine-kinine combinaties aequivalent zijn aan bepaalde morphine-doseringen, is uit dit proefmateriaal niet te beantwoorden, voornamelijk doordat niet na te gaan is in hoeverre de wijze van injectie hierbij een rol speelt.

e) Symoron, intraperitoneaal toegediend, heeft analgetische eigenschappen.

f) Symoron, intramusculair toegediend, is duidelijk analgetisch werkzaam.

g) Symoron is, intramusculair aan ratten toegediend, duidelijk sterker analgetisch werkzaam (3/4 uur na injectie) dan intraperitoneaal toegediend. In hoeverre de verschillende wijze van injectie hierbij een rol speelt is uit dit proefmateriaal echter niet op te maken.

h) Indirect is de conclusie te trekken dat een deel van intramusculair toegediende Symoron te vervangen zou zijn door intraperitoneaal toegediende kinine; de invloed van de injectie was echter uit dit proefmateriaal niet na te gaan.

j) Uit de genomen proeven valt niet te concluderen tot analgetische werking van oraal toegediende kinine. Een vergelijking tussen intraperitoneaal en oraal toegediende kinine is uit dit proefmateriaal niet rechtstreeks mogelijk.

k) Salicylamide, oraal toegediend, vertoont duidelijk analgetische werkzaamheid.

l) De vraag of een deel der oraal toegediende salicylamide te vervangen zou zijn door kinine, is uit deze proeven niet bevestigend te beantwoorden.

6. Algemene opmerkingen.

Het ontbreken van overeenkomstige blanco proeven leverde bij dit statistische onderzoek de grootste bezwaren op.
Teneinde een behoorlijke vergelijking te kunnen trekken zou het o.i. gewenst zijn telkens een groep van volkomen overeenstemmende ratten (minstens 30 exemplaren, liefst meer), willekeurig (b.v. door loting) in drieën te verdelen. Van deze 3 sub-groepen zou er dan één volkomen onbehandeld gelaten moeten worden, de 2e slechts ingespoten met het gebruikte vehiculum en de 3e met het vehiculum dat de te onderzoeken stof bevat. De proeven met deze 3 groepen zouden dan gelijktijdig moeten worden uitgevoerd. Bij een grotere serie proeven met verschillende doses van eenzelfde therapeuticum zou volstaan kunnen worden met één behoorlijke groep blanco's voor alle proeven tezamen, mits gelijktijdig uitgevoerd.

Ook bij orale toediening is het gewenst een dergelijke gelijktijdige proefopstelling te maken n.l. een controlegroep te nemen die op dezelfde wijze eenzelfde hoeveelheid onwerkzame stof krijgt toegediend. Bij orale toediening kan weliswaar de injectie geen invloed hebben, mogelijk echter wel andere factoren b.v. het uit kun rust halen van de dieren enz.

In die gevallen waarbij gevraagd wordt een vergelijking te trekken tussen het effect van dezelfde stof op twee verschillende manieren per injectie toegediend (intraperitoneaal of intramusculair) zou het, teneinde het verschil in werking van de geinjicieerde stof als zodanig te kunnen nagaan, raadzaam zijn de dieren steeds beide injecties te geven, waarbij in het eng/geval de te onderzoeken stof in de ene injectie vervat is, in het andere geval in de andere injectie.

In die gevallen waarbij een bepaald therapeuticum per injectie wordt toegediend en de werking hiervan moet worden vergeleken met de werking van een tevens door een andere vorm van injectie toegediende vervangingsstof, zouden de proefdieren, óók in het eerste geval, beide injecties moeten krijgen (één met het vehiculum).

Opmerking: De waarnemingen werden steeds verricht op een bepaald tijdstip na toediening van het te onderzoeken therapeuticum. De conclusies gelden dus uitsluitend voor het gemeten tijdstip. Een mogelijk verschil in werkzaamheid tussen de gebruikte injectiemethoden (b.v. ten gevolge van verschil in resorptie ens.) is hierbij dus geheel buiten beschouwing gelaten.

Voor het bepalen van een functioneel verband tussen dosis en effect van een te onderzoeken stof is het wenselijk, ook in de hogere doseringen, de opeenvolgende te toetsen doses niet te ver uiteen te laten liggen. Bij de hogere doseringen immers is een rechtlijnig verband ten enenmale onaannemelijk, terwijl dit bij de lagere doseringen niet uitgesloten moet worden geacht. Indien zeer veelvuldig totale analgesie optreedt, is van voortzetting van de proef met hogere doseringen niets meer te verwachten.

Bij statistisch onderzoek is het niet mogelijk bij kleinere groepen proefdieren een minimum werkzame dosis aan te geven. Bij vergroting van het aantal voor een bepaald onderzoek gebruikte proefdieren, komt een eventueel bestaand effect immers eerder tot uiting dan bij kleinere groepen. Het niet vinden van een significant verschil wil niet zeggen dat er geen verschil aanwezig is; het wil slechts zeggen dat een dergelijke conclusie uit het voorhanden zijnde proefmateriaal niet getrokken mag worden.

Een moeilijkheid bij deze proefopstelling was het optreden van totale analgesie. Hierbij kunnen zich verschillende gevallen voordoen.

1e. In beide vergeleken groepen komen geen of zeer weinig gevallen van totale analgesie voor. In dat geval is de toets van Wilcoxon goed bruikbaar.

2e. In de lagere doseering komt geen of slechts in een enkel geval totale analgesie voor, in de hogere doseering komt totale analgesie echter veelvuldig voor. In dat geval is de methode van de 2 x 2-tabel ook goed toepasbaar.

3e. In beide vergeleken groepen komt het verschijnsel van totale analgesie, in niet sterk verschillende mate, vrij vaak voor. In dat geval zijn de proeven ongeschikt om de beide doseringen verder te onderscheiden.

Het zou vermoedelijk mogelijk zijn door een combinatie van de toets van Wilcoxon met de methode der 2 x 2-tabel, zowel de grootte van de stijgingen in reactietijd als ook de frequentie van het optreden van totale analgesie, tegelijk als maat voor de analgetische werking te benutten. De toepasbaarheid van deze toets zou aanzienlijk groter zijn dan die van beide toetsen afzonderlijk. Daar de uitwerking van deze methode echter te veel tijd zou vergen, werd hier voor dit verslag van afgezien.

Opmerking: Bij de proeven onder II kwam het voor, dat met behulp van de toets van Wilcoxon géén, met behulp van de toets der 2 x 2-tabel echter wél significantie gevonden werd bij vergelijking van 2 doseringen morphine. In zo'n geval is het juist het verschil als significant (met onbetrouwbaarheidsdrempel 0,05) te beschouwen, indien één van beide toetsingsmethoden significantie oplevert met een onbetrouwbaarheidsdrempel $\alpha = 0{,}025$.

Het bij de controleproef gevonden significante verschil tussen de 1e middagblanco bepaling zowel met de 1e als met de 2e ochtendblanco, kan mogelijk worden toegeschreven aan de middagrust van de dieren. In dat geval zou te verwachten zijn dat dit effect vervalt door een voorafgaande toediening van het therapeuticum. Daar wij echter niet de beschikking hadden over met de proeven parallel lopende blanco's, leek het ons niet verantwoord dit zonder meer aan te nemen en de berekeningen dienovereenkomstig uit te voeren.

Bijlage 1

I Vel A

Intraperitoneale toediening van kinine

groep	dosis mgr/KGr
a	10
b	12.5
c	15
d	20
e	25
f	30
g	35
h	35
i	40
k	45
l	45
m	50
n	50
p	50
q	75
r	100

II Vel B

Intramusculaire toediening van morphine

groep	dosis mgr/KGr
a	5
b	5
c	5
d	5
e	5
f	5
g	7
h	7
i	8
k	9
l	10
m	20

III Vel C

Intraperitoneaal kinine + intramusculair morphine

groep	dosis morph.	mgr/KGr kinine
a	5	10
b	5	12.5
c	5	15
d	5	20
e	5	25
f	5	30
g	5	35
h	5	40
j	5	50

IV Vel D

Intraperitoneale toediening van Symoron

groep	dosis mgr/KGr
a	2.5
b	4
c	4.5
d	5
e	5
f	5.5
g	6
h	6
j	7
k	8
l	9

V Vel E

Intramusculaire toediening van Symoron

groep	dosis mgr/KGr
a	0.5
b	1
c	2
d	2.5
e	2.5
f	3
g	3
h	3.5
i	4
k	5

VI Vel F

Intramusculair Symoron + intraperitoneaal kinine

groep	dosis Symoron	mgr/KGr kinine
a	0.5	50
b	0.5	75
c	0.5	100
d	1	50
e	4.5	50

VII Vel G

Peroraale toediening van kinine

groep	dosis mgr/KGr
a	80
b	100
c	120
d	140
e	160
f	160
g	160
h	160
i	200
k	200
l	220
m	220

VIII Vel H

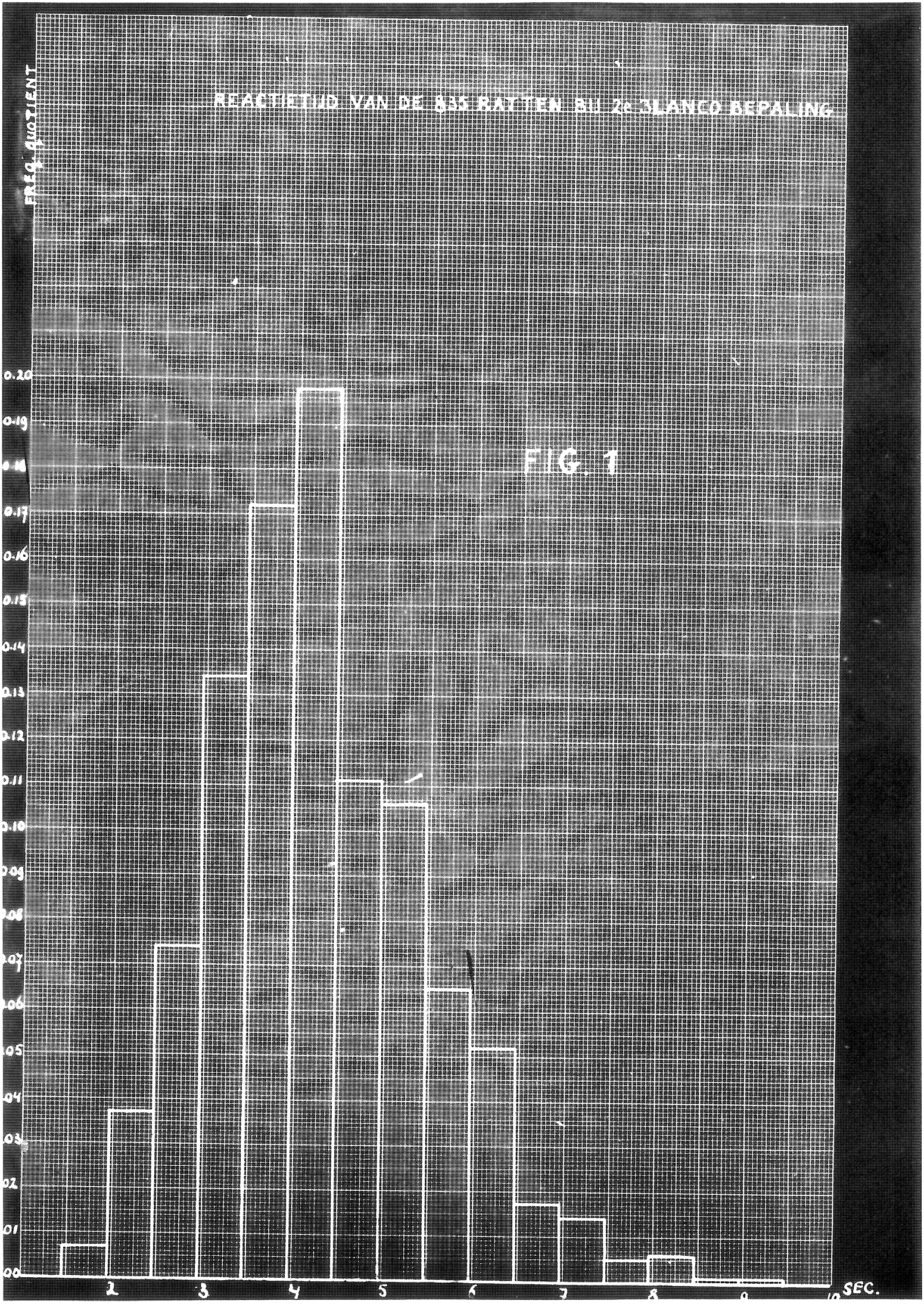
Peroraale toediening van salicylamide

groep	dosis mgr/KGr
a	50
b	60
c	70
d	80

IX Vel I

Peroraal salicylamide + kinine

groep	dosis mgr/KGr salicyl.	kin.
a	35	50
b	35	40
c	35	30
d	50	50
e	50	50


REACTIETIJD VAN DE ABS. BAKTEN. BIJ 2% BLANCO BEPALING
FIG. 1
FREQ. QUOTIENT
0.20
0.19
0.17
0.16
0.14
0.13
0.12
0.11
0.10
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
2
3
4
5
6
7
8
9
10
SEC.

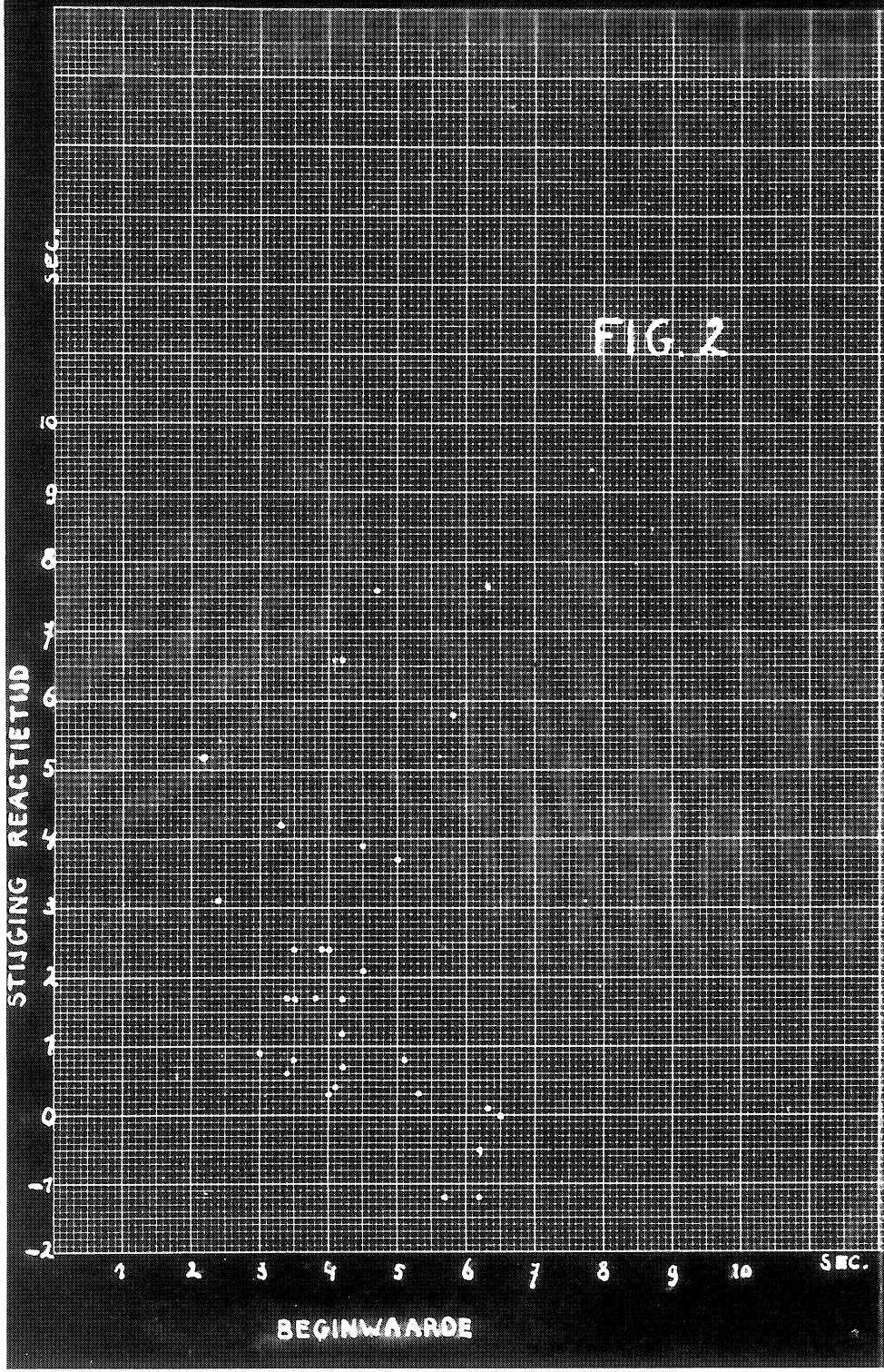

STIJGING REACTIETIJD
SEC.
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 SEC.
BEGINWAARDE

FIG. 2

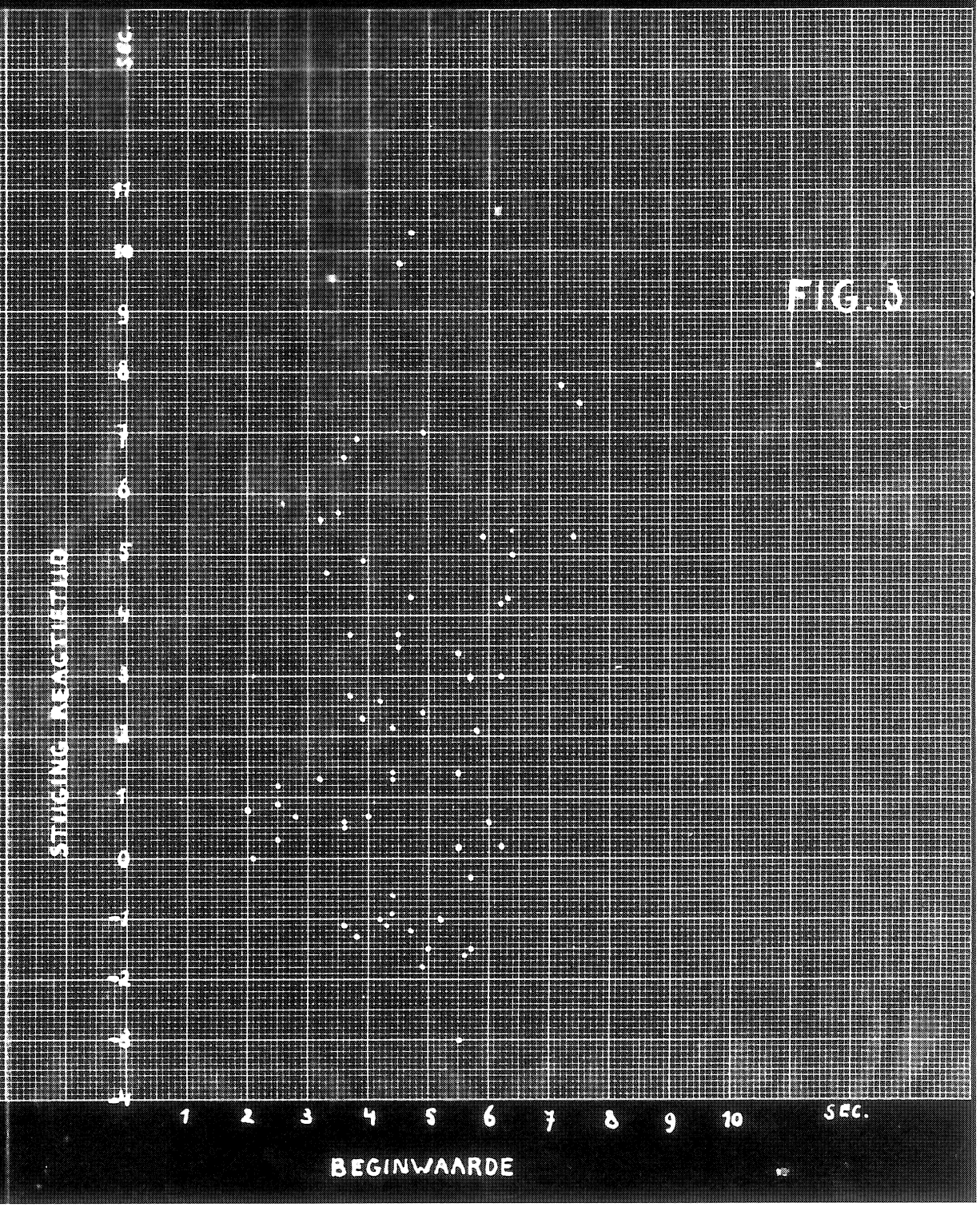
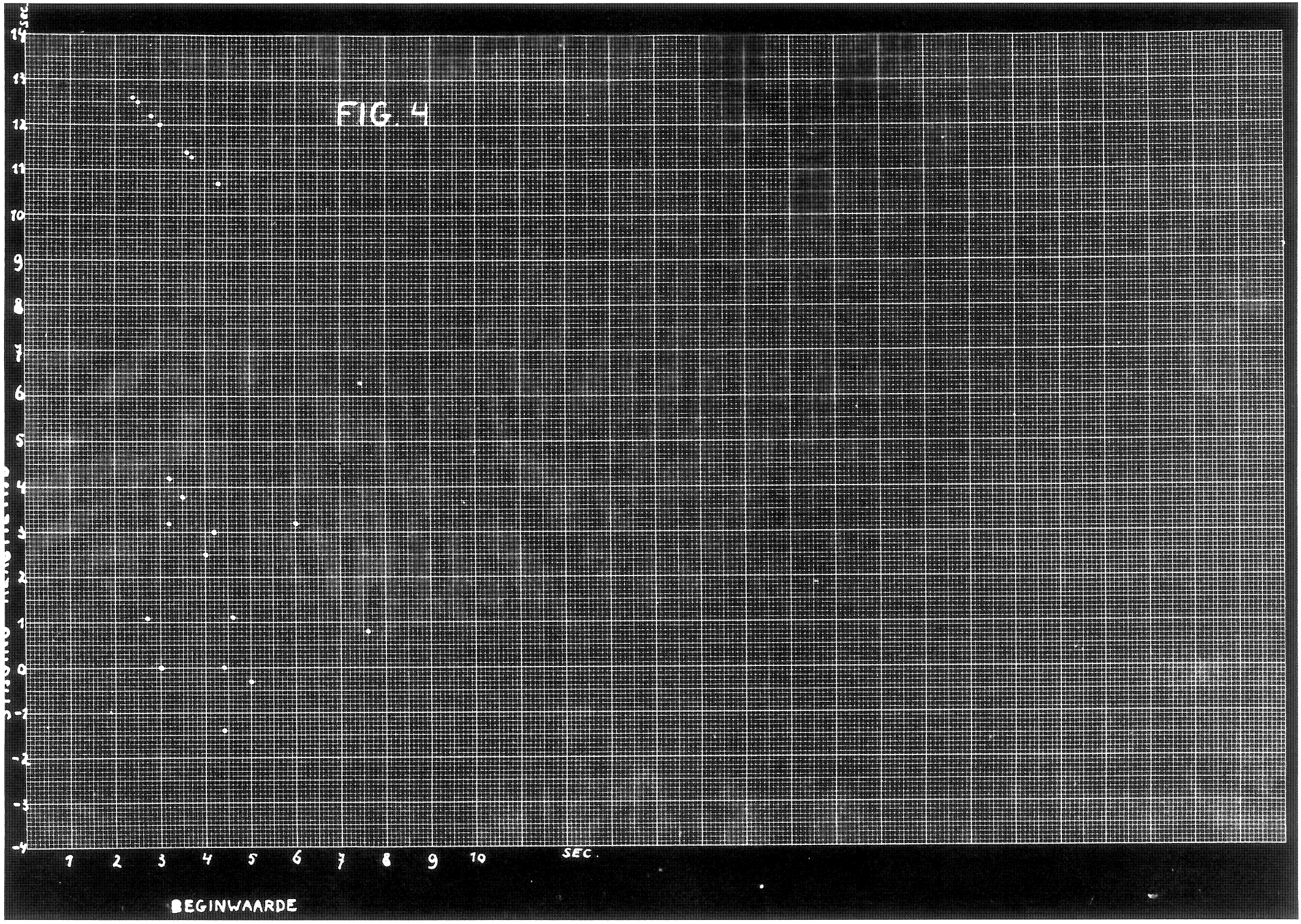
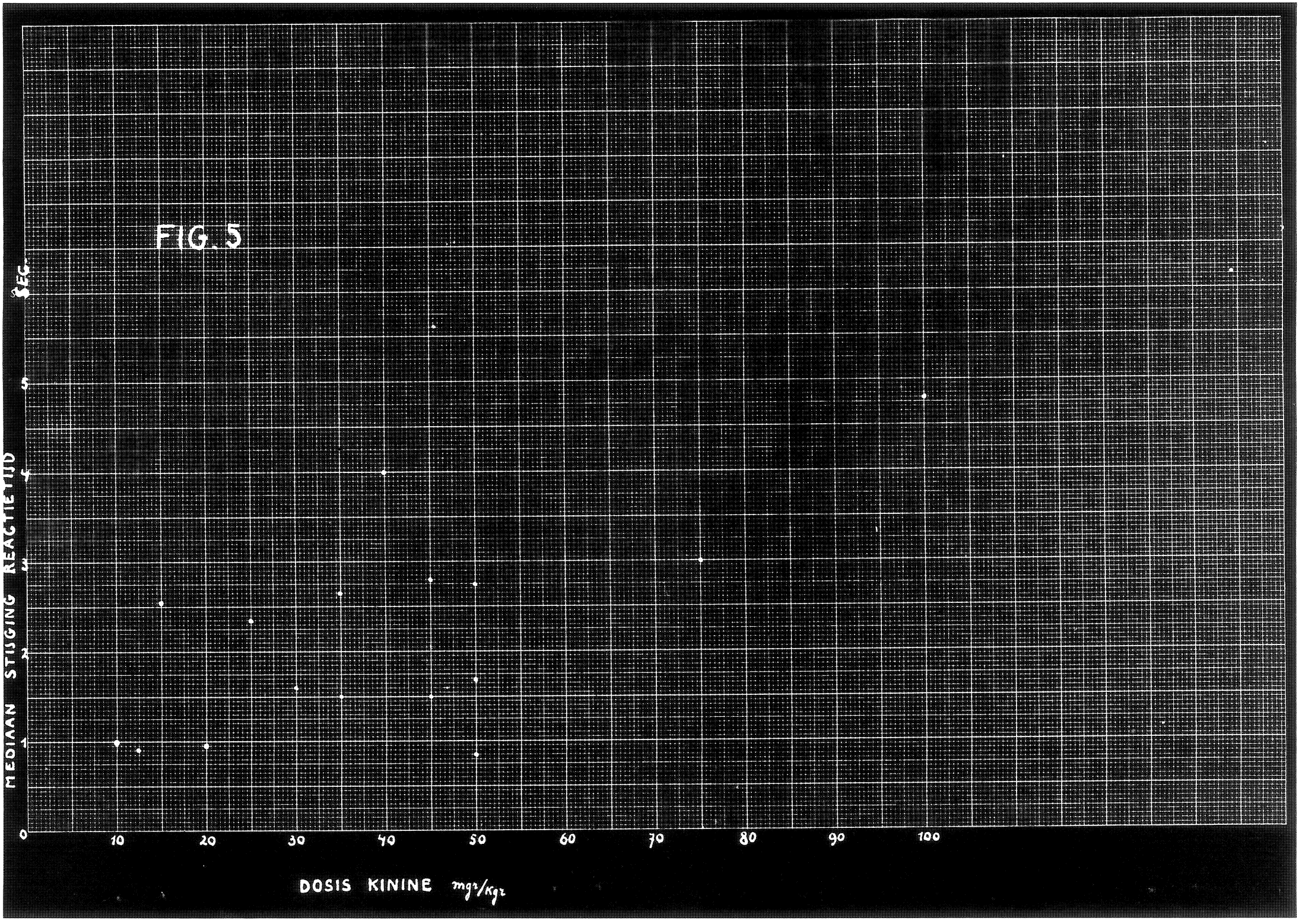

STIJGING REACTIETIJD
SEC.
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 SEC.
BEGINWAARDE

FIG. 3


FIG 4
SEC
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
SEC
BEGINWAARDE


FIG. 5
MEDIAAN STIJGING REACTIETIJD
SEC.
5
4
3
2
1
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
DOSIS KININE mgr/Kgr

GEMIDDELDEN STIJGING REACTIETIJD

0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100

DOSIS KININE mg/kg

sec.

MATHEMATISCH CENTRUM
Amsterdam
Statistische Afdeling.

S47(M6)

Algemene gang van zaken bij het toetsen van een hypothese. [1]

De toetsing van een hypothese H_0 berust steeds op een aantal waarnemingen $x_1, x_2, \ldots, x_n$ van één of meer stochastische grootheden[2], of op enige groepen van waarnemingen (bv. twee steekproeven).

Bij een toets behoort een toetsingsgrootheid $\underline{u}$ (soms meer dan één), die een functie is van bovengenoemde stochastische grootheden en die, voor de waargenomen waarden $x_1, x_2, \ldots, x_n$ een waarde aanneemt, die berekend kan worden (bv.: het gemiddelde der waarnemingen, of de spreiding, of het verschil van de gemiddelden van twee waarnemingen).

De toetsingsgrootheid wordt steeds zo gekozen, dat men, op grond van de onderstelling, dat H_0 juist is, de waarschijnlijkheidsverdeling van deze grootheid kan berekenen.

Vervolgens kiest men een verzameling Z van mogelijke uitkomsten van $\underline{u}$, en wel op zodanige wijze, dat de kans, dat $\underline{u}$ een in Z gelegen waarde aanneemt, onder de hypothese H_0, gelijk is aan een gegeven getal α, zodat Z dus van α afhankelijk is[3]. Z heet de kritieke zône van de toets, α de onbetrouwbaarheidsdrempel (Engels: level of significance). Voor α neemt men veelal de waarde 0,05 of 0,01.

Men verwerpt nu H_0 op grond van de waarnemingen $x_1, x_2, \ldots, x_n$, indien de bij deze waarnemingen behorende waarde van $\underline{u}$ in Z ligt. Dit wordt vaak uitgedrukt door te zeggen, dat het resultaat van het experiment "significant" is. De waarde van α moet dan echter worden vermeld. De kans, dat dit zal gebeuren, is, indien H_0 juist is, gelijk aan α. Derhalve is α de kans op ten onrechte verwerping van de juiste hypothese, ook de kans op een fout van de eerste soort genoemd. Indien men deze methode toepast, met α = 0,05 resp. 0,01, zal men in gemiddeld ongeveer één op 20 resp. op 100 van de gevallen, waarin de hypothese die men toetst juist is, deze toch verwerpen.

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid.

2) Een stochastische grootheid is een grootheid, die een waarschijnlijkheidsverdeling bezit, of, anders gezegd, een grootheid, die voor de elementen van een collectie(universum,populatie) gedefinieerd is en daarop allerlei waarden aanneemt. Stochastische grootheden worden aangegeven door onderstreepte letters.

3) Soms kan men slechts bereiken, dat deze kans $\leq \alpha$ is.

De toetsingstheorie biedt in het algemeen geen mogelijkheid om tot aanvaarding van een hypothese te komen. Indien een bepaalde hypothese H_0 niet verworpen kan worden, is dit gewoonlijk met een hele verzameling van hypothesen tegelijk het geval. Niet-verwerpen staat dus niet gelijk met aanvaarden.

Wel zal men vaak in de loop van een statistische analyse bepaalde onderstellingen, die plausibel schijnen en voor de verdere analyse van nut zijn, toetsen, alvorens ze bij de verdere bewerking van het materiaal te gebruiken. Worden zij dan op grond van de toets niet verworpen, dan houdt dit in zo verre een rechtvaardiging van die onderstellingen in, dat een grote afwijking door de toets veelal wel zou zijn ontdekt. Indien men dan verder de onderstellingen gebruikt, verwaarloost men eventueel aanwezige afwijkingen van onbekende grootte, die echter niet zo groot zijn, dat zij door de toets zijn ontdekt.

Vele toetsen gelden zelf alleen onder bepaalde onderstellingen omtrent de waarschijnlijkheidsverdelingen der stochastische grootheden, waarvan waarnemingen zijn verricht. Deze nevenvoorwaarden dienen steeds uitdrukkelijk te worden vermeld en, zo mogelijk, zelf te worden getoetst.

In plaats van de onbetrouwbaarheidsdrempel α wordt vaak bij de uitslag van een toetsing de overschrijdingskans k opgegeven; dit is de kleinste waarde van α, waarbij in het betrokken geval, nog tot verwerping van H_0 zou zijn overgegaan, anders gezegd: de kleinste α, waarvoor de gevonden waarde der toetsingsgrootheid nog juist in de (bij α behorende) kritieke zône Z ligt. Wordt dus de waarde k opgegeven en werkt men met onbetrouwbaarheidsdrempel α, dan wordt verworpen, indien $k \leq \alpha$ is.

Voor het onderscheid tussen één- en tweezijdige toetsing en de keuze tussen deze twee mogelijkheden vergelijke men bv. de tweede hieronder gegeven litteratuurplaats. Wij moeten hier volstaan met de opmerking, dat éénzijdige toetsing veelal eerder tot verwerping van H_0 leidt, maar dat deze slechts onder bijzondere omstandigheden kan worden toegepast.

Litteratuur:

J.Neyman, First course in probability and statistics, New York, 1950, Chapter 5.

J.Hemelrijk en H.R. van der Vaart, Het gebruik van één- en tweezijdige overschrijdingskansen voor het toetsen van hypothesen, Statistica 4 (1950) p.54-66.

MATHEMATISCH CENTRUM
Amsterdam
Statistische Afdeling.

S47 (M7)

De toets van Wilcoxon.[1)]

Deze methode dient tot het toetsen van de hypothese H_0, inhoudend dat twee steekproeven $x_1, \ldots, x_n$ en $y_1, \ldots, y_m$ afkomstig zijn uit één collectie (ook populatie of universum genaamd). Zij is strict genomen, toepasbaar onder de voorwaarde, dat er geen enkel paar waarden (x_i, y_j) is met $x_i = y_j$. Verdere voorwaarden zijn voor de toepassing niet nodig, terwijl ook de zojuist genoemde, indien er niet teveel dergelijke paren zijn, de toepassing van de toets weinig hindert.

De toetsingsgrootheid U is het aantal paren (x_i, y_j) waarvoor $x_i > y_j$ is (het aantal "inversies"). Daar er $n.m$ dergelijke paren zijn, kan U alle gehele waarden van 0 tot en met $n.m$ aannemen. Is U groot, dan liggen er veel waarden x_i verder naar rechts dan waarden y_j, is U klein, dan juist weinig.

De kritieke zône K neemt nu daarom de kleine en de grote waarden van U en wel van beide zoveel, dat de gekozen onbetrouwbaarheidsdrempel α niet overschreden wordt.

Voor éénzijdige toetsing, te onderscheiden in linker- en rechter-éénzijdige toetsing, gebruikt men kritieke zônes K_1, resp. K_2, die geheel bestaan uit kleine, resp. grote waarden van U.

Verwerping van H_0 ten gevolge van het vinden van een grote (resp. kleine) waarde van U wijst erop, dat $x_1, \ldots, x_n$ en $y_1, \ldots, y_m$ steekproeven uit verschillende collecties zijn, waarbij de op de x-collectie aangenomen waarden systematisch groter (resp. kleiner) dan de op de y-collectie aangenomen waarden zijn.

Litteratuur:

F. Wilcoxon, Individual comparisons by ranking methods, Biometrics 1 (1945), p. 80-83.

H.B. Mann and D.R. Whitney, On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other, Ann. Math. Stat. 18 (1947), p. 50-60. Bevat tabellen voor n en m ≦ 8.

H.R. van der Vaart, Some remarks on the power function of Wilcoxon's test for the problem of two samples, Proceedings van de Kon. Ned. Ak. v. Wet., 53 (1950), p. 494-520.

H.R. van der Vaart, Gebruiksaanwijzing voor de toets van Wilcoxon, met tabellen voor n en m ≦ 10, Rapport S32 (M_4)(1950).

D. van Dantzig, Kadercursus Mathematische Statistiek, Math. Centrum, Amsterdam (1947-50), hoofdstuk 6, 3.

---

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid.

MATHEMATISCH CENTRUM,
2de Boerhaavestr. 49,
A m s t e r d a m - O.
Statistische Afdeling.
S 47 (M 10)

Symmetrietoets[1].

Hypothese H_o: de waarnemingen $z_1,\ldots,z_n$, zijn afkomstig van n onafhankelijk verdeelde stochastische grootheden, die alle symmetrisch ten opzichte van 0 verdeeld zijn[2]. Van deze toets bestaan meerdere versies $T_1,\ldots,T_2''$. We bespreken eerst T_1 en T_2.

Toetsingsgrootheden. Deze worden als volgt uit $z_1,\ldots,z_n$, afgeleid:

1e. de waarnemingen, die gelijk aan 0 zijn worden weggelaten. Stel er blijven over: $z_1,\ldots,z_n$.

2e. Hieruit worden de positieve waarnemingen gezocht. Stel dit zijn $x_1,\ldots,x_{n_1}$, dus n_1 in aantal.

3e. De overblijvende negatieve waarnemingen worden van teken veranderd, zodat zij ook positief worden. Stel dit zijn dan $y_1,\ldots,y_{n_2}$.

4e. De grootheden $x_1,\ldots,x_{n_1}$ en $y_1,\ldots,y_{n_2}$ worden, door elkaar, in afdalende grootte-volgorde opgeschreven. Stel dit geeft: $w_1,\ldots,w_n$. (Komen er gelijken voor, dan worden deze in willekeurige volgorde geplaatst.)

5e. De groep waarden $w_1,\ldots,w_n$ wordt verdeeld in twee groepen $w_1,w_2,\ldots,w_r$ en $w_{r+1},\ldots,w_n$, waarbij $w_r \neq w_{r+1}$ is en r zo dicht mogelijk bij de waarde $\frac{1}{2}n$ genomen wordt. Is n even, dan wordt $r=\frac{1}{2}n$, indien althans $w_{\frac{1}{2}n} \neq w_{\frac{1}{2}n+1}$ is. Zijn er twee mogelijk keuzen voor r, beide op gelijke afstand van $\frac{1}{2}n$, dan nemen wij $r > \frac{1}{2}n$. Is b.v. n oneven en $w_{\frac{1}{2}n-\frac{1}{2}} \neq w_{\frac{1}{2}n+\frac{1}{2}}$, dan nemen wij $r=\frac{1}{2}n+\frac{1}{2}$. Wij geven de waarden $w_1,\ldots,w_r$ aan als groep A (die dus r elementen bevat) en de overigen als groep B. Alle elementen van A zijn dus groter dan ieder element van B[3].

---

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid.

2) Zetten wij hier a in plaats van 0, dan geldt H_o voor $x_1-a,\ldots,x_n,-a$.

3) In de oorspronkelijke publicaties over deze toets (zie de litteratuurverwijzingen aan het einde van dit memorandum) is een enigzins minder algemene definitie van r gegeven.
Alle stellingen blijven echter gelden, indien de hier gegeven definitie gebruikt wordt.

6e. Het aantal waarden van $x_1,\ldots,x_n$ die in A voorkomen noemen wij u.

De toetsingsgrootheden zijn $\underline{n_1}$ en $\underline{u}$, r is een hulpgrootheid.

V.B. 22 waarden z_i: 7,4/6,3/3,6/3,5/3,4/2,9/2,5/1,1/0/6/-1,3/-2,5/-3,2/-4,6/-4,6/-4,6/-4,8/-5,3/-7,0/-7,9/-8,0/-8,7.

$\therefore$ r = 11, n_1 = 8
u = 2

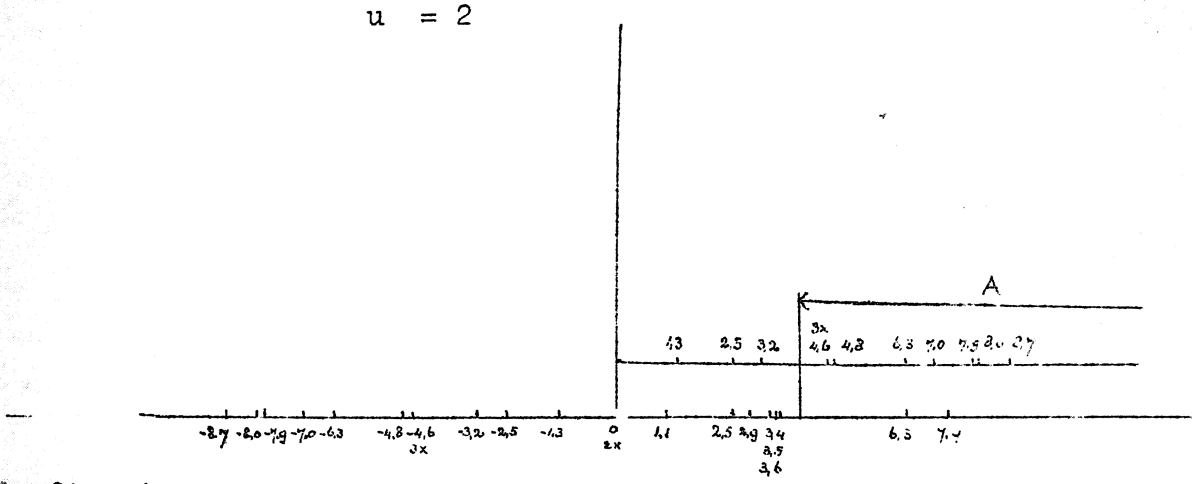


fig. 1

Kritieke zônes. Waarden van n_1, die dicht bij 0 of dicht bij n liggen, zullen, als H_o juist is weinig, maar als H_o onjuist is vaker, voorkomen. Grote resp. kleine waarden van u zullen eveneens, als H_o juist is weinig voorkomen. Hierop berust de keuze van de bij T_1 en T_2 behorende kritieke zônes Z_1 resp. Z_2. Z_1 bevat grote en kleine waarden van n_1 en grote en kleine waarden van u, terwijl Z_2 bij grote waarden van n_1 in hoofdzaak grote waarden van u en bij kleine waarden van n_1 in hoofdzaak kleine waarden van u bevat. T_1 leidt bij voldoende grote n vrijwel steeds tot verwerping als de hypothese niet is vervuld. T_2 leidt echter alleen tot verwerping van H_o als er veel positieve (resp, negatieve) waarden zijn, die verder van 0 verwijderd liggen dan de negatieve (resp. positieve). In sommige gevallen is het juist van belang om deze laatste afwijkingen van H_o te ontdekken. In dat geval gebruikt men T_2 liever dan T_1. In fig. 2 is een schematisch voorbeeld gegeven van een serie waarnemingen, waarbij het aantal positieve groter is dan het aantal negatieve, terwijl deze positieve dichter bij 0 liggen dan de negatieve, zodat T_2 niet tot verwerping leidt.

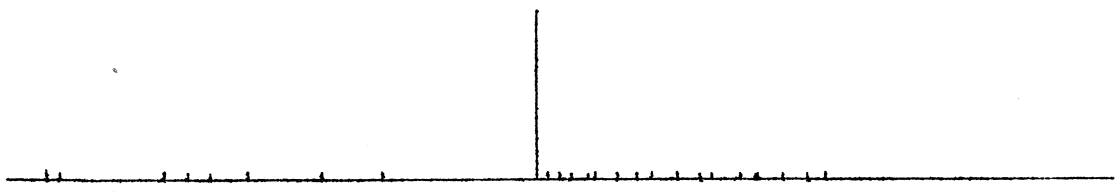


fig. 2

Van T_1 en T_2 bestaan ook éénzijdige versies, waarvan de beschrijving te ver zou voeren.

T_1' en T_2'.

Toetsingsgrootheden.

1e, 2e en 3e als boven. Eerste toetsingsgrootheid: n_1.

4e: op $x_1,\ldots,x_{n_1}$ en $y_1,\ldots,y_{n_2}$ wordt de toets van Wilcoxon toegepast (vgl. S 47 (M 8)). De toetsingsgrootheden zijn n_1 en de U van deze toets van Wilcoxon.

Kritieke zônes. Overwegingen analoog aan die voor T_1 en T_2 (met U in plaats van u) leiden tot analoge kritieke zônes Z_1' en Z_2', behorend bij T_1' en T_2'.

Opmerkingen: T_1 en T_2 zijn bijzonder geschikt voor een niet te groot aantal waarnemingen. Zij gelden ook voor niet continue verdelingen. T_1' en T_2' zijn alleen geschikt, als er geen of weinig paren (x_i,y_j) met $x_i=y_j$ zijn. Voor grote aantallen zijn T_1' en T_2' geschikter dan T_1 en T_2. Er is ook een versie voor grote aantallen (T_1'' en T_2''), die geheel analoog is met T_1' en T_2' met dien verstande, dat u in plaats van U wordt gebruikt (vgl. b.v. [2], blz. 77, § 6.4.5).

Litteratuur:

[1] J.Hemelrijk, A family of parameterfree tests for symmetry with respect to a given point, I, II. Proceedings van de Kon.Ned.Ak.v.Wet. 53 (1950), p.945-955. Indagationes Mathematicae 12 (1950), p. 340-350.

[2] - " - , Symmetrietoetsen, Diss., Den Haag 1950, Excelsior.

MATHEMATISCH CENTRUM
2de Boerhaavestr.49
A M S T E R D A M O.
Statistische Afdeling
S47 (M14)

Methode der m rangschikkingen [1]

Een duidelijk voorstelling van deze toetsingsmethode verkrijgt men door n elementen te beschouwen, die een bepaald kenmerk, eventueel in verschillende mate, bezitten. dit kenmerk wordt door m waarnemers beoordeeld en ieder van deze waarnemers rangschikt deze n elementen volgens zijn beoordeling naar opklimmende waardering. Op deze wijze ontstaan m rijen van rangschikkingen. We willen nu een maat aangeven voor de overeenstemming tussen deze rangschikkingen, m.a.w. een maat voor de overeenstemming tussen de m beoordelingen. De hypothese H_0, die met deze methode getoetst kan worden, houdt in dat er geen overeenstemming tussen de waarnemers bestaat; precieser gezegd, dat alle rangschikkingen onafhankelijk van elkaar op toevallige wijze zijn ontstaan. Dit is b.v. het geval, als het betrokken kenmerk in werkelijkheid voor alle elementen dezelfde waarde bezit.

We kunnen de afleiding voor de maat van overeenstemming het eenvoudigst geven aan de hand van een voorbeeld.

elementen	A	B	C	D	E	F
rangnummers toegekend door waarnemer a	5	4	1	6	3	2
b	2	3	1	5	6	4
c	4	1	6	3	2	5
d	4	3	2	5	1	6
	15	11	10	19	12	17

De som van alle rangnummers is $\frac{1}{2} n\, m(n+1)$. Onder de hypothese H_0 is het theoretische gemiddelde van iedere kolom: $\frac{1}{2} m(n+1)$

We beschouwen nu de afwijkingen van dit gemiddelde. In ons voorbeeld is het theoretisch kolomgemiddelde gelijk aan 14. De afwijkingen daarvan zijn

$1 \quad -3 \quad -4 \quad 5 \quad -2 \quad 3$

---

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid

De som der kwadraten van deze afwijkingen noemen we S

In ons voorbeeld is $S = 64$

Als alle m rangschikkingen gelijk zijn wordt het maximum van S bereikt.

Dit maximum is $\frac{1}{12} m^2(n^3-n)$

We definiëren nu als <u>coëfficiënt van overeenstemming</u>

$$W = \frac{12\,S}{m^2(n^3-n)}$$

In ons voorbeeld is $W = \frac{12 \times 64}{16 \times 210} = 0{,}229$

W varieert dus tussen 0 en 1

De verdeling van W onder de hypothese $\mathcal{H}_o$ is exact berekend voor een aantal waarden van n en m [1] terwijl voor grote n en m benaderingen bekend zijn.[1] Hiermee kan $\mathcal{H}_o$ dus getoetst worden, waarbij $\mathcal{H}_o$ verworpen wordt, als W waarden dichtbij 1 aanneemt. De kritieke zône is dus van de vorm $W \geqq W_o$

Het kan voorkomen dat de waarnemers geen onderscheid ontdekken in de mate waarin verschillende elementen het kenmerk bezitten. Ze geven deze elementen dan gelijke rangnummers.

Veronderstel, dat door een waarnemer geen onderscheid wordt gemaakt tussen de elementen, die de rangnummers 3 t/m 6 moeten dragen. Dan wordt als rangnummer van iedere van deze elementen het gemiddelde van de rangnummers $\frac{1}{4}(3+4+5+6) = 4\frac{1}{2}$

gebruikt.

Daar het maximum van S nu verandert, moeten we een correctie op de formule van W toepassen; deze vindt men in het boek van Kendall behandeld.

Litteratuur:

[1] M.G.Kendall, Rank correlation methods, London 1948
hoofdstuk 6 p.80.

tabel verdelingsfunctie van W voor

$n = 3$ $m = 2$ t/m 10
$n = 4$ $m = 2$ t/m 6
$n = 5$ $m = 3$

op p. 146-149

MATHEMATISCH CENTRUM,
2de Boerhaavestr. 49,
A m s t e r d a m -O.

Statistische Afdeling
S 53 (M 22)

Tekentoets[1)]

Deze toets dient voor het toetsen van de hypothese H_o, dat een aantal grootheden $\underline{z}_1,\ldots,\underline{z}_n$ alle nul tot mediaan hebben, d.w.z. dat

$$P\left[\underline{z}_i > 0\right] = P\left[\underline{z}_i < 0\right] \qquad i = 1,\ldots,n,$$

is. De toets geldt zonder enige verdere beperking dan de eis, dat de grootheden $\underline{z}_i$ onderling onafhankelijk verdeeld zijn; zij behoeven niet dezelfde waarschijnlijkheidsverdeling te bezitten.

De toets berust op één waarneming van ieder der grootheden $\underline{z}_i$, dus op n waarnemingen $z_1,\ldots,z_n$. De waarnemingen, die de waarde 0 bezitten, laten wij buiten beschouwing[2)]. Als toetsingsgrootheid gebruiken wij nu $\underline{n}_1$, het aantal positieve waarnemingen. Zijn er m waarnemingen $\neq 0$, dan bezit $\underline{n}_1$ een binomiale verdeling, onderstellende, dat H_o juist is:

$$P\left[\underline{n}_1 = n_1 \mid H_o\right] = \binom{m}{n_1} 2^{-m}.$$

Als kritieke zône worden de grote en kleine waarden van n_1 genomen. De kritieke zône is, voor onbetrouwbaarheidsdrempels 0,01; 0,05; 0,10 en 0,25 en m =1 tot 100 getabelleerd door

W.J.Dixon and A.M.Mood, The statistical sign test, Jrn.Am.Stat.Ass. 41 (1946) p. 556-566.

Voor een groter aantal waarnemingen gebruikt men als benadering van de binomiale verdeling de aangepaste normale verdeling.

Opmerking: De toets wordt vaak gebruikt, indien men een aantal grootheden twee maal heeft waargenomen, voor en na een bepaalde gebeurtenis, om na te gaan of deze gebeurtenis invloed op de grootheden heeft uitgeoefend. Noemen wij de waarnemingen vóór het optreden der gebeurtenis $\underline{x}_i$ (i=1,...,n) en erna $\underline{y}_i$, dan hebben de grootheden $\underline{x}_i-\underline{y}_i$ alle o als mediaan, indien $\underline{x}_i$ dezelfde verdeling bezit als $\underline{y}_i$ (dus als de gebeurtenis geen invloed heeft gehad). De toets wordt nu toegepast op $\underline{z}_i=\underline{x}_i-\underline{y}_i$ (i=1,...,n).

---

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid.

2) In tegenstelling tot de gewoonte deze waarnemingen voor de helft bij de positieve en voór de helft bij de negatieve te tellen; de door ons gebruikte methode geeft de toets een groter onderscheidingsvermogen.

MATHEMATISCH CENTRUM,
2de Boerhaavestr. 49,
A m s t e r d a m - O.

Statistische Afdeling.
S 53 (M 23).

Toetsing van de hypothese $p_1 = p_2$ met behulp van een 2 x 2-tabel[1].

Wij beschouwen twee reeksen van onafhankelijke experimenten, waarbij ieder experiment van de ene reeks één van de twee resultaten A of $\bar{A}$ (non-A) heeft en ieder experiment van de tweede reeks één van de beide resultaten B of $\bar{B}$ (hierbij kan A=B zijn). Daarbij wordt ondersteld, dat bij ieder der experimenten van de ene reeks de kans op A gelijk aan p_1 (en dus de kans op $\bar{A}$ gelijk aan $1-p_1$) is en bij ieder der experimenten van de tweede reeks de kans op B gelijk aan p_2 (en dus de kans op $\bar{B}$ gelijk aan $1-p_2$). De te toetsen hypothese luidt nu:

$$H_o: \quad p_1 = p_2.$$

Indien de eerste reeks uit n en de tweede reeks uit m waarnemingen bestaat, waaronder n_1 (resp. m_1) maal A (resp. B) voorkomt, kunnen deze gegevens in de volgende 2 x 2-tabel worden samengevat:

	A resp. B	$\bar{A}$ resp. $\bar{B}$	totaal
eerste reeks	n_1	$n-n_1$	n
tweede reeks	m_1	$m-m_1$	m
totaal	r	$n+m-r$	$n+m$

Als toetsingsgrootheid wordt n_1, het aantal malen A in de eerste reeks waarnemingen, gebruikt. Indien H_o juist is bezit deze grootheid onder de voorwaarde, dat r de bij het experiment gevonden waarde aanneemt, de volgende waarschijnlijkheidsverdeling: de kans, dat een bepaalde waarde n_1 aangenomen wordt, is gelijk aan:

$$\frac{\binom{n}{n_1}\binom{m}{m_1}}{\binom{n+m}{r}}$$

Als kritieke zône worden de waarden van n_1 met de kleinste waarschijnlijkheden bijeengezocht, tot de gekozen betrouwbaarheidsdrempel het toevoegen van een nieuwe waarde verhindert (bij éénzijdige toetsing bestaat de kritieke zône uitsluitend uit grote of uitsluitend uit kleine waarden van n_1).

---

1) Dit memorandum is slechts bedoeld ter oriëntatie en streeft niet naar volledigheid of volledige exactheid.

De overschrijdingskans, behorende bij de gevonden waarde van n_1, is gedefiniëerd als de som van alle waarschijnlijkheden van bovenstaande verdeling, die hoogstens gelijk aan de waarschijnlijkheid van de gevonden waarde zijn (bij éénzijdige toetsing echter gelijk aan de som van de waarschijnlijkheden van alle waarden die groter of gelijk aan de gevondene, of van alle waarden, die kleiner of gelijk aan de gevondene zijn). Deze exacte toetsingsmethode voor H_o is afkomstig van R.A. Fisher.

Indien n en m zo groot zijn, dat deze exacte berekening te omslachtig wordt, maakt men gebruik van de volgende benadering:

Gemiddelde en spreiding van de grootheid n_1 zijn (indien H_o juist is):

$$\frac{nr}{n+m} \quad \text{resp.} \quad \sqrt{\frac{nmrs}{(n+m)^2(n+m-1)}}$$

Men gebruikt dan in plaats van de exacte waarschijnlijkheidsverdeling van n_1 de normale verdeling met hetzelfde gemiddelde en dezelfde spreiding en in plaats van de gevonden waarde van n_1 neemt men het getal, dat $\frac{1}{2}$ dichter bij het gemiddelde ligt dan deze gevonden waarde (dit laatste is de z.g. "continuïteitscorrectie", die bij toenemende n en m weldra verwaarloosd kan worden). Met behulp van de benadering gaat men dan verder te werk als boven beschreven, daarbij gebruik makende van een tabel van de normale verdeling.

<u>Litteratuur</u>:

R.A.Fisher, Statistical Methods for Research Workers, London 1948, p. 96. <u>Opmerking</u>: Fisher gebruikt hier de éénzijdige overschrijdingskans.

J.Hemelrijk, Waarschijnlijkheidsrekening en Statistiek, Vacantiecursus Mathematisch Centrum, Amsterdam 1950, § 4.