

STATISTISCHE AFDELING.

Amsterdam, Aug. 1949.

Rapport omtrent het onderzoek en de publicaties
van Mme M. Loureau. ¹⁾_____

De Heer J.A. Kuyper legde ons, naar aanleiding van zijn proefnemingen met leverinjecties bij konijnen de publicaties van Mme M. Loureau voor, tezamen met een serie waarnemingsresultaten van door haar verrichte proeven. Hij vroeg ons om beoordeling van de statistische aspecten van dit onderzoek en van de door Mme Loureau gevolgde methode.

Het doel van de proefnemingen is o.a. de daling van de kleurindex van het menselijk bloed, die optreedt als men patienten, lijdende aan pernicioze anaemie, met bepaalde leverpreparaten inspuit, na te bootsen door konijnen met lood te vergiftigen en vervolgens eveneens met deze leverpreparaten in te spuiten. Indien voor preparaten, waarvan de werkzaamheid voor menselijke patienten bekend is, een analoge daling bij de kleurindex van de konijnen optreedt, zou men vervolgens wellicht nieuwe preparaten kunnen ijken door de gemiddelde grootte van de daling van de kleurindex bij met dit preparaat ingespoten konijnen ~~af te meten~~ te bepalen. Verder trekt Mme Loureau een aantal physiologische conclusies uit haar experimenten- In dit rapport zullen wij ons alleen bezig houden met de statistische conclusies, die zij uit haar waarnemingen trekt.

De methode van Mme Loureau is de volgende:
Van een met lood vergiftigd konijn wordt één of twee maal per dag de kleurindex bepaald. Het leverpreparaat wordt eerst in zeer geringe concentratie toegediend; indien dit niet binnen enkele dagen (een scherpe grens wordt hiervoor niet opgegeven) een sterke daling van de kleurindex ten gevolge heeft, wordt na enige dagen een grotere concentratie toegediend en zo verder. Als criterium voor deze daling gebruikt Mme Loureau het grootste van de waargenomen verschillen tussen een waarde van de kleurindex bij of na de inspuiting van het preparaat, en latere waarnemingen van deze kleurindex met lagere waarde. Geeft men de waarden (in tijdsvolgorde) bij en na een inspuiting aan met x_i ($i = 1, 2, \dots$) dan wordt dus als criterium gebruikt de grootte:

$$d = \max (x_i - x_j) \text{ voor } i < j.$$

De inspuiting geschiedt 's morgens vroeg, vlak na waarneming van de kleurindex. De volgende waarneming 24 uur later, dus om de 12 uur ongeveer.

1) Opgesteld door Mej. A.M.J.A. Verbeek en J. Hemelrijk

Het materiaal, van Mme Loureau, dat wij tot onze beschikking hebben, bestaat uit 134 dergelijke waarnemingsseries, alle ver-richt op met lood behandelde konijnen, met inspuitingen van di-verse preparaten in opklimmende concentraties en onder verschil-lende omstandigheden.

Litteratuur. De volgende drie publicaties van Mme Loureau, betrekking hebbende op dit onderzoek, werden ons door de Heer Kuyper ter beschikking gesteld:

- (1) Standardisation de l'activité antipernicieuse des extraits hépatiques par une méthode biologique, Bull. Sté. Chim. Biol. 25 (1943) p.393-401.
- (2) Sur un caractère essentiel de l'anémie saturnine, Sang 17 (1946) p.242-246.
- (3) Titrage quantitatif du facteur antipernicieux par une mé-thode biologique, Sang 17 (1946) p.363-375.

Mme Loureau constateert blijkens deze publicaties uit haar proeven o.a. de volgende verschijnselen wat betreft het gedrag van de kleurindex bij konijnen onder verschillende omstandighe-den.

(a) De grootheid d overschrijdt bij met lood vergiftigde ko-nijnen, die geen leverinjecties hebben gehad, slechts zeer zel-den de waarde 0.14. De regeneratie, die tengevolge van leverin-jecties optreedt, gaat echter steeds gepaard met waarden van $d \geq 0.15$, terwijl bovendien de waarde van d stijgt met de begin-waarde van de kleurindex. Het optreden van een waarde van $d \geq 0.15$ stijgende met de beginwaarde van de kleurindex is dus een crite-rium voor de antipernicieuze werkzaamheid van het ingespoten leverpreparaat ¹⁾.

(b) Ieder preparaat bezit een werkzaamheidsdrempel, (d.i. die hoeveelheid, die minstens nodig is voor het verkrijgen van posi-tief effect), die zeer nauwkeurig bepaald is (tot 1% zelfs), onafhankelijk van het volume van de inspuiting, van het ingespo-ten konijn, van voorafgaande inspuitingen met kleinere ~~concentra~~^{dosis}-~~tie~~, van de tijd, die verlopen is sinds het ingeven van het lood en van nog enkele physiologische factoren. Dientengevolge kan men de hele serie proeven, die nodig zijn voor het bepalen van de drempelwaarde, met behulp van één konijn uitvoeren.

(c) Niet met lood vergiftigde konijnen vertonen deze reactie op leverinspuitingen niet.

Dit zijn de belangrijkste conclusies (voor zoverre de ijkmetho-de betreft, die Mme Loureau volgens deze methode heeft ontwikkeld) die in deze publicaties vermeld staan. De physiologische conclu-sies, die zij uit het bestaan van deze verschijnselen trekt, val-len buiten onze competentie.

1) De vraag, of hier het woord "antipernicieus" gerechtvaardigd is zullen wij terzijde laten. Vergelijking met de klinische werkzaam-

Ter illustratie van haar methode en van de genoemde verschijnselen heeft Mme Loureau een aantal waarnemingsresultaten in de vorm van grafieken en tabellen opgenomen. Deze gegevens zijn voor statistische beoordeling van haar conclusies niet omvangrijk genoeg (alleen ter bevestiging van (a) is een groter aantal waarnemingsresultaten vermeld). Ook het ons door de Heer Kuyper verstrekt, van Mme Loureau afkomstige, uitgebreidere materiaal, is hiervoor niet geschikt, aangezien daarbij niet volledig aangegeven is, welke preparaten ingespoten zijn, zodat groepering naar het preparaat niet mogelijk is.

Wij moeten daarom volstaan met enkele algemene methodologische opmerkingen, van statistisch karakter, daarbij buiten beschouwing latende, of er ook biologische principes zijn, die het maken van gevolgtrekkingen, die, zuiver statistisch beschouwd, niet gerechtvaardigd zouden zijn, mogelijk maken.

Opmerking I.

Indien de kleurindex in de dagen na een inspuiting een sterke schommeling vertoont, kan $d \geq 0,15$ zijn, zonder dat men strikt genomen, van een daling kan spreken. Mme Loureau gebruikt dan ook de term val ("chute").. Dat het niet haar bedoeling is om zich tot dalingen in de strikte zin van het woord te beperken, blijkt uit het volgende voorbeeld, dat voorkomt in het waarnemingsmateriaal (blad no 46 II, eerste regel):

0,91 0,98 1,23 1,04 1,02 positief effect.

Hierin is $d = \max_{i < j} (x_i - x_j) = 0,21$, terwijl de analoge grootte, die $\frac{1}{2} \sum_{i < j} (x_i - x_j)$ als criterium voor sprongen naar boven kan worden gebruikt:

$$s = \max_{i < j} (x_j - x_i) = 0,32 \text{ is.}$$

De sprong naar boven is hier groter dan de val, treedt eerder op dan de val en is even snel als de val. Bovendien liggen alle waarden na de inspuiting boven de beginwaarde (0,91).

Deze opmerking behoeft het betoog van Mme Loureau niet aan te tasten; wel echter dient men er op verdacht te zijn, dat ook dergelijke series waarnemingen als positief worden geregistreerd, zodat het wenselijk is, indien men $d \geq 0,15$ als criterium voor werkzaamheid wil gebruiken, door middel van controle-experimenten na te gaan, of preparaten, waarvan op één of andere grond bekend is, dat zij geen klinische werkzaamheid bezitten, niet wellicht toch als werkzaam kunnen worden geregistreerd, doordat zij grote schommelingen van de kleurindex veroorzaken.

Opmerking II.

Voorts is het duidelijk, dat een methode, waarbij enige keren na verkregen negatief resultaat opnieuw wordt ingespoten met een sterkere dosis, en na een positief resultaat niet, de kans op het (tenslotte) verkrijgen van een positief resultaat zeer groot maakt, ongeacht de mérites van de ingespoten stof. Ook hier zijn contrôle-experimenten met niet-werkzame preparaten gewenst. Het is echter niet te verwachten, dat men tengevolge van dit effect een scherp bepaalde werkzaamheidsdrempel van een niet-werkzaam preparaat zou vinden, daar in dit geval de voorafgaande insputtingen wel van belang zouden zijn, in tegenstelling tot de door Mme Loureau geconstateerde verschijnselen met werkzame preparaten.

Opmerking III.

Uit de vorige opmerking blijkt het grote belang van de scherpe bepaaldheid van de werkzaamheidsdrempel, daar deze een criterium vormt, waarmee men schijn-effecten, die op zouden treden op grond van de in opmerking II genoemde waarschijnlijkheidsoverwegingen, van werkelijk positieve effecten kan onderscheiden.

Het in opmerking I genoemde verschijnsel levert ook nog een gevaar op, wat deze werkzaamheidsdrempel betreft. Het is n.l. niet ondenkbaar, dat er klinisch niet-werkzame preparaten zouden zijn, die een schommeling van de kleurindex teweeg zouden brengen, waarvan de grootte stijgt met de ingespoten dosis. Deze preparaten zouden dan een volgens de methode van Mme Loureau bepaalde scherpe drempelwaarde kunnen bezitten en derhalve verwarrend kunnen werken op de ijkmethode.

Het is ons niet bekend, welke contrôleproeven Mme Boureau met het oog op deze mogelijkheid heeft verricht. Wellicht kunnen haar overige publicaties op dit gebied hierover uitsluitend geven. Ook is bij deze beschouwingen, zoals reeds opgemerkt, de eventuele mogelijkheid om op biologische of physiologische gronden verkregen conclusies in de redenering in te schakelen, buiten beschouwing gelaten. Indien men echter op statistische gronden tot de bruikbaarheid van een ijkmethode, gebaseerd op deze drempelwaarde wil besluiten, dient men zich er door contrôle-experimenten met liefst zoveel mogelijk wel- en niet-werkzame preparaten van te overtuigen, dat de drempelwaarde bij de werkzame preparaten bestaat en bepaalbaar is en bij de niet-werkzame niet. Ook contrôle-experimenten met niet-vergiftigde konijnen zijn nodig.

In het algemeen is het wenselijk bij een dergelijk onderzoek van tevoren rekening te houden met de eisen, die een statistische verwerking van de waarnemingsresultaten stelt.
