



# LUNDS UNIVERSITET

Magisteruppsats i statistik, 91-120 hp

Insulinantikroppars påverkan på risken för  
hypoglykemi hos patienter med diabetes typ 2  
behandlade med inhalerat eller subkutant insulin

*Författare:*  
Linnea Wahlgren

*Handledare:*  
Per Larsson  
Björn Holmquist

15 november 2010

### **Abstract**

A higher levels of insulin antibodies has been seen with diabetes patients who inhale insulin instead of injecting it subcutaneously, which is the most common way to take insulin. Whether or not this increased level of insulin antibodies affect the patients condition is not fully investigated in all aspects. This essay aims to, in different ways describe and analyse if a higher level of insulin antibodies is related to a higher risk of hypoglycemia (hypo, unhealthy low levels of blood sugar). Several different approaches are presented and different statistical methods applied to data from a clinical trial with 618 patients with diabetes type 2. We consider the hypo's severity, proportion of patients with hypo, number of hypos per patient, time to first hypo (with Kaplan Meier plots and Cox proportional hazards model) and different extensions of Cox proportional hazards model. The results are discussed and compared between the two different treatment methods (inhaling or injecting insulin) and between different levels of antibodies.

It is shown that the patients inhaling insulin run a lower risk of getting hypos, and an increased level of antibodies is not shown to increase the risk of a hypo.

# Innehåll

<b>1</b>	<b>Inledning</b>	<b>4</b>
1.1	Bakgrund . . . . .	4
1.2	Syfte . . . . .	5
<b>2</b>	<b>Datamaterial</b>	<b>6</b>
2.1	Definitioner . . . . .	6
2.2	Riskfaktorer . . . . .	7
<b>3</b>	<b>Beskrivning och analys av data</b>	<b>9</b>
3.1	Hypons svårighetsgrad . . . . .	10
3.1.1	Pearsons $\chi^2$ -test . . . . .	11
3.1.2	Hypons svårighetsgrad vs halt av antikroppar . . . . .	11
3.1.3	Sammanfattning av hypons svårighetsgrad . . . . .	12
3.2	Andel med minst en händelse . . . . .	12
3.2.1	Pearsons $\chi^2$ - och Fishers exakta test . . . . .	12
3.2.2	Mantel-Haenszels $\chi^2$ -test och logistisk regression . . . . .	14
3.2.3	Sammanfattning av andel med hypo . . . . .	16
3.3	Tid till första händelse, överlevnadsanalys . . . . .	17
3.3.1	Funktioner i överlevnadsanalys . . . . .	17
3.3.2	Censurering . . . . .	18
3.3.3	Hantering av ties . . . . .	18
3.3.4	Kaplan-Meier . . . . .	19
3.3.5	Cox proportionella intensitetsmodell . . . . .	20
3.3.6	Proportionalitetsantagandet . . . . .	21
3.3.7	Sammanfattning av tid till första händelse . . . . .	22
3.4	Det totala antalet händelser . . . . .	23
3.4.1	Kvoter . . . . .	24
3.4.2	Poisson- och negativ binomialregression . . . . .	24
3.4.3	Sammanfattning av det totala antalet händelser . . . . .	27
3.5	Tid till alla händelser . . . . .	27
3.5.1	Upprepade händelser, utvidgade Cox-modeller . . . . .	27
3.5.2	Tidsberoende kovariater . . . . .	28
3.5.3	Akaikes informationskriterium . . . . .	28
3.5.4	Andersen och Gills intensitetsmodell . . . . .	29
3.5.5	Prentice, Williams och Petersons betingade modell . . . . .	34
3.5.6	Wei, Lin och Weissfelds marginalmodell . . . . .	35
3.5.7	Sammanfattning av de utvidgade Cox-modellerna . . . . .	39

<b>4</b>	<b>Sammanfattning och diskussion</b>	<b>40</b>
	<b>Figurer</b>	<b>44</b>
	<b>Tabeller</b>	<b>45</b>
<b>A</b>	<b>Appendix</b>	<b>46</b>
	A.1 Formler . . . . .	46
	A.2 Stratumspecifika skattningar . . . . .	47

# Kapitel 1

## Inledning

### 1.1 Bakgrund

Typ 2-diabetes, eller åldersdiabetes som det kallades tidigare, orsakas av en minskad känslighet för insulin i kroppen, så kallad insulinresistens. Följden av den minskade känsligheten blir att kroppen behöver öka sin produktion av insulin för att kunna hålla blodsockret på en normal nivå [1]. I de fall kroppens insulin inte är tillräckligt behöver den drabbade få i sig insulin utifrån. Om man får i sig mer insulin än vad som krävs och blodsockret sjunker till en alltför låg nivå kan man drabbas av insulinkänning eller hamna i insulinkoma. Insulinkänning eller insulinkoma kan bara personer som behandlas med blodsockersänkande medicin få [2].

Hypoglykemi eller insulinkänning kan man få då man har låg blodsockerhalt, vanligen under 3,5 millimol per liter blod [2]. Vanliga tecken på en hypoglykemi (från och med nu refererat till som hypo) är darrningar, yrsel, svettningar, huvudvärk, hjärtklappning och irritation. Sjunker blodsockret till cirka 1 mmol/l, kan man också hamna i hypoglykemisk koma eller insulinkoma, vilket är ett medvetslöst, livshotande tillstånd [2].

Då kroppens egna insulinproduktion är otillräcklig och extra tillskott behövs, har detta vanligen injicerats subkutant av patienten själv. På senare tid har det uppkommit ett alternativ där insulinet istället inhaleras, och sedan absorberas från lungorna ut i blodet.

År 1974 upptäcktes att de flesta diabetespatienter bildade antikroppar mot insulin [1], vilket har observerats både hos patienter som injicerat och inhalerat insulin. Olika insulin kan ge olika mängd antikroppar och insulinet man inhalerar har observerats att ge en högre halt antikroppar i blodet än det som injiceras [3].

I september 2006 lanserade läkemedelsföretaget Pfizer ett inhalerbart insulin, Exubera. Exubera sades vara lika effektivt, dock inte effektivare än injicerat insulin. Forskare på U.S. Food and Drug administration (FDA) evaluerade data från de kliniska studier som utförts och fann ett samband mellan förhöjd halt av insulinantikroppar och hypos hos patienter som använde Exubera. Medicinen

sålde dåligt och i januari 2008, efter drygt år på marknaden drog Pfizer tillbaka medicinen [4].

Data till denna uppsats kommer från en klinisk prövning genomförd av läkemedelsföretaget Novo Nordisk, i vilken ett insulin som injiceras subkutan, SC, jämförs med företagets inhalerbara insulin AERx.

## 1.2 Syfte

Syftet med uppsatsen är att på olika sätt analysera och beskriva om en hög halt av antikroppar i blodet, samt val av behandlingsmetod leder till fler och/eller svårare hypos. Detta ämnar vi, efter bästa förmåga, göra på ett så lättförståeligt sätt som möjligt. För att bearbeta och analysera materialet har främst SAS men också SPSS använts som verktyg.

## Kapitel 2

# Datamaterial

Datamaterialet som tillhandahållits av Novo Nordisk innehåller följande information:

Subj id	id-nummer på patienten
Sex	kön (M=male, F=female)
Age	ålder vid ingångsdatum
Race	ursprung (white, asian, black, other)
Treatment	behandlingsgrupp, SC för injicerat insulin och AERx för inhalerat
Rand date	datum då patienten gick med i studien
Coll date	datum då insulinantikroppar uppmätts i blodet
Value	anger halt av antikroppar
Hypo date	datum för varje hypo
Hypo time	tidpunkt för varje hypo
Hypo severity	svårighetsgrad av hypo (symptoms, minor, major)

Det består av totalt 618 patienter som alla har typ 2-diabetes. Hälften randomiserades in i behandlingsgruppen med injicerat insulin (SC i materialet) och hälften randomiserades till gruppen med inhalerat insulin (AERx). När man utesluter de patienter som avbrutit studien utan att varken haft hypos eller mätningar av antikroppar efter randomisering, återstår 575 individer varav 296 st behandlats med SC och 279 st med AERx.

### 2.1 Definitioner

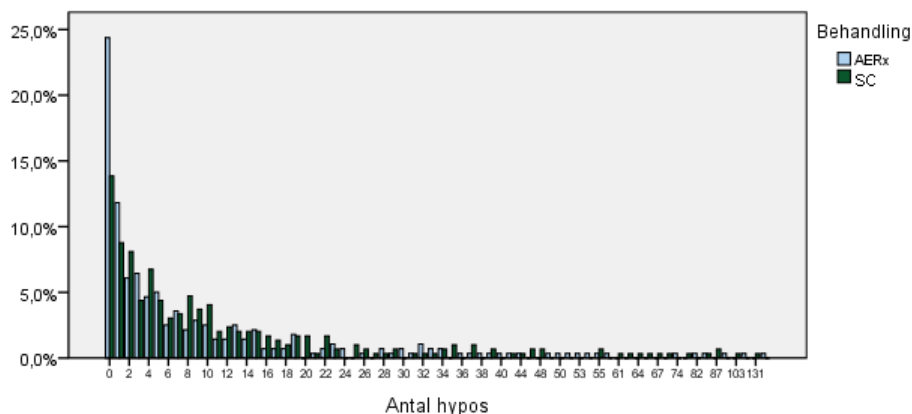
Individens tid i studien (uppföljningstid) räknas från randomiseringsdatum (rand date) fram till sista hypo (hypo date) eller sista mätning av antikroppar (coll date), beroende på vilket som skedde sist.

Varje patients halt av antikroppar har uppmätts mellan en och åtta gånger under studien, den första mätningen cirka två veckor innan individerna påbörjat behandlingen. Värdet vid den första mätningen är alltså helt opåverkat av behandlingsmetod i studien. I de fall då antikroppshalten som uppmätts varit negativ, vilket inte är teoretiskt möjligt, har mätvärdet satts till 0,01, det

lägsta uppmätta positiva värdet. För att få en mer symmetrisk fördelning med färre outliers används den naturliga logaritmen av variabeln antikroppsvärde i samtliga regressioner.

Under sin tid i studien fick individerna då och då hypos. Antalet hypos varje individ fick varierade kraftigt; en del fick inga alls medan andra fick så många som 140 stycken. För att de individer som fått extremt många hypos inte ska påverka alltför mycket, använder vi i de utvidgade Cox-modellerna (analys av tid till alla händelser) endast de tio första hypos varje individ får. Har en patient fler hypos görs ett avbrott vid den tionde hypon patienten anses ha avsluta studien detta datum.

Ungefär 20 % av individerna i studien har fått fler än tio hypos. Före brytningen gjordes hade patienterna tillsammans fått 6900 hypos som efter materialet reducerats kom ner till knappt 3100. En femtedel av patienterna stod alltså tillsammans för över hälften av alla hypos. Figur 2.1 visar fördelningen av antal hypos uppdelat på behandlingsgrupp.



Figur 2.1: Antal hypos

Patienterna har själva fått dokumentera varje hypo de fått och för varje svårighetsgrad av hypo finns olika kriterier som måste uppfyllas. För att hypon ska klassas som "major" krävs att patienten inte själv varit kapabel att behandla sin hypo, utan behövt hjälp utifrån. Hypon klassas som "minor" om patienten upplevt symptom och haft ett uppmätt blodsocker på under 3,1 mmol/liter. Om patienten haft symptom som tyder på för lågt blodsocker, men inte ett blodsocker under 3,1 mmol/liter, eller inte haft möjlighet att mäta blodsockret klassas hypon som "symptoms (only)".

## 2.2 Riskfaktorer

Vi avser i denna uppsats att analysera huruvida behandlingsmetod och halt av antikroppar påverkar antal hypos och/eller svårighetsgrad av hypo. Data-materialet innehåller även information om patienternas ålder, ursprung och



kön, men då ålder och kön i tidigare studier visats inte ha någon betydelse [5] kommer variablerna inte tas med i några analyser. Över 80 % av patienterna i vårt material klassades som "white", vilket innebär att vi hade för få patienter med annat ursprung för att dra några slutsatser om detta.

## Kapitel 3

# Beskrivning och analys av data

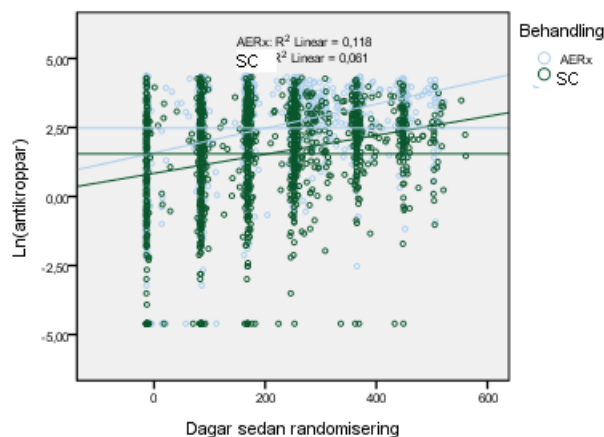
I tabell 3.1 presenteras sammanfattande statistik på data uppdelat på behandlingsgrupper. Den genomsnittliga observationstiden är 17 dagar längre i gruppen som injicerat insulin (SC), och medianen 18 dagar längre. SC-gruppen hade också något fler hypos och tiden till första hypon är 13 dagar kortare (medianen) än för AERx-gruppen. Eftersom man i överlevnadsdata har censurerade observationer (individer som aldrig får en hypo under observationstiden) brukar man undvika att titta på medelvärde och standardavvikelse då man mäter tid till första händelse, utan istället se på medianen.

Vid första mätningen av antikroppar (opåverkad av behandling) låg AERx-gruppen ungefär en och en halv enhet högre än SC-gruppen och vid sista mätningen hade skillnaden ökat till knappt tolv enheter. Båda behandlingsgrupperna har alltså fått ett högre värde under studiens gång, dock har AERx-gruppens värden ökat betydligt mer. Att halten antikroppar i blodet ökar mer vid användning av inhalerat insulin är konstaterat i tidigare studier[3].

Behandling		Dagar i studien	Antal hypos	Dagar till hypo 1	Baselinevärde	Sista antikropps värde
AERx	Mean	245	10,49	-	11,12	25,86
	Median	248	4	51	2,72	21,56
	Std	138	18,11	-	17,30	19,58
	Minimum	1	0	1	0,01	0,01
	Maximum	523	140	-	75,45	73,42
SC	Mean	262	12,63	-	9,50	14,14
	Median	266	7	38	2,41	9,49
	Std	132	18,17	-	15,22	13,83
	Minimum	1	0	1	0,01	0,01
	Maximum	560	131	-	74,88	71,81

Tabell 3.1: Sammanfattande statistik

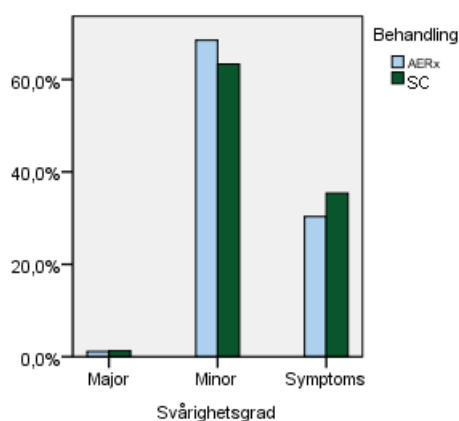
Regressionslinjerna i figur 3.1 visar hur antikroppsvärdena ökar med tiden och de horisontella linjerna visar medelvärdet för varje behandlingsgrupp. Avståndet mellan de lutande linjerna ökar allteftersom behandlingen pågår, patienterna i AERx-gruppens halt av antikroppar ökar mer än hos dem i SC-gruppen.



Figur 3.1: Halt av antikroppar mot tiden

### 3.1 Hypons svårighetsgrad

Totalt hade patienterna tillsammans fått 3050 hypos vid studiens slut. Andelen allvarliga hypos ("major") är relativt liten, drygt 1 % inom varje behandlingsgrupp. Andelen "minor" är ungefär fem procentenheter högre i AERx-gruppen och andelen "symptoms" är lika många procentenheter lägre.



Figur 3.2: Hypons svårighetsgrad uppdelad på behandlingsform

### 3.1.1 Pearsons $\chi^2$ -test

Ett vanligt test för att jämföra om andelarna mellan olika grupper skiljer sig åt är Pearsons  $\chi^2$ -test. En korstabell med två variabler sätts upp och  $\chi^2$ -värdet räknas ut för att se om variablerna är oberoende av varandra. Värdet räknas ut

$$\chi^2 = \sum \sum \frac{(O - E)^2}{E},$$

där  $O$ =observerad frekvens och  $E$ =förväntad frekvens och summationen sker över de olika kombinationerna av variablerna.

Testet förutsätter att observationerna är oberoende och kräver ett tillräckligt stort stickprov med förväntade frekvenser på minst fem i varje cell. I de fall vi har en 2x2-tabell och har små stickprov och/eller låga förväntade frekvenser i någon cell kan istället Fishers exakta test (se avsnitt 3.2.1) användas.

I tabell 3.2 ges fördelningen av svårighetsgrad för hypon i de två behandlingsgrupperna.

	Svårighetsgrad			Total
	Major	Minor	Symptoms	
AERx(n=279)	15	901	399	1315
%	1,1	68,5	30,3	100
SC(n=296)	22	1099	614	1735
%	1,3	63,3	35,4	100
Total(n=575)	37	2000	1013	3050
%	1,2	65,6	33,2	100

Tabell 3.2: Behandling mot hypons svårighetsgrad

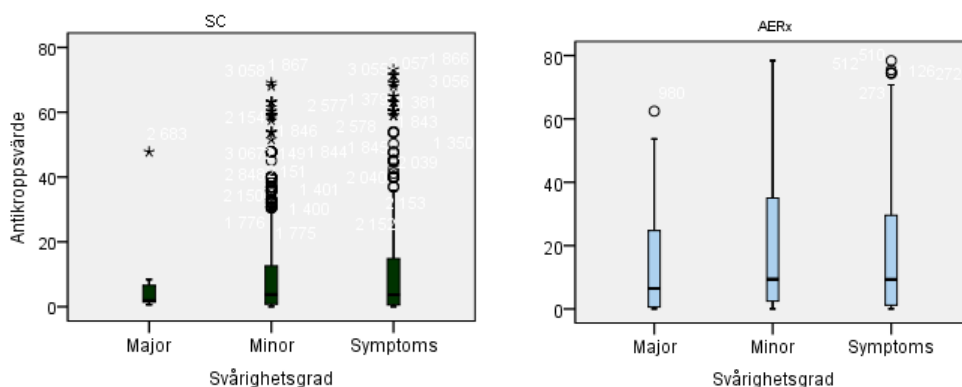
Testet ger ett  $\chi^2$ -värde på 8,89 med två frihetsgrader vilket ger ett p-värde på 1,2 %. Resultatet visar på att svårighetsgraden av hypo, om förutsättningarna för testet är uppfyllda, skiljer sig åt mellan de båda behandlingsgrupperna. Att flera hypo i denna klassificering kommer från en och samma individ medför dock att det är tveksamt om antagandet om oberoende mellan observationerna är uppfyllt.

### 3.1.2 Hypons svårighetsgrad vs halt av antikroppar

En tidigare undersökning har indikerat att halten antikroppar i blodet tycks öka risken för svårare former av hypo för dem som inhalerar insulin [5]. För att se om svårighetsgraden på hypos visar någon tendens att öka med en högre halt antikroppar i blodet gör vi en boxplot (figur 3.3) för varje behandlingsgrupp. Om det finns en uppåtgående trend från höger till vänster i figurerna tycks svårighetsgraden öka med en ökad halt antikroppar i blodet.

Cirklarna i figur 3.3 är outliers (mer än 1,5 kvartilavstånd från tredje kvartilen) och stjärnorna avlägsna outliers (mer än 3 kvartilavstånd från samma punkt).

I AERx-gruppen kan man möjligen se en tendens till ökning av antikroppar mellan "symptoms" och "minor", men halten minskar igen för "major". Inget



Figur 3.3: Boxplot av halt av antikroppar mot svårighetsgrad

sådant samband kan ses i SC-gruppen, snarare tycks de i vårt material finnas en nedåtgående trend. Vi har dock mycket få hypos av den svåraste graden i våra data (totalt 15 som behandlats med AERx och 22 som behandlats med SC), vilket gör det svårt att dra några slutsatser om detta.

### 3.1.3 Sammanfattning av hypons svårighetsgrad

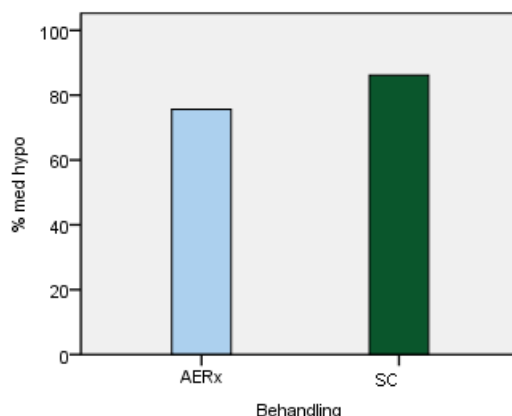
Endast en mycket liten del (cirka 1 %) av alla hypos är så allvarliga att patienten behöver hjälp från andra. Pearsons  $\chi^2$ -test visar att svårighetsgraden av hypo inte är oberoende av behandling. Dock är detta test mycket osäkert med våra data eftersom observationerna inte med säkerhet kan antas vara oberoende av varandra då varje individ svarar för flera hypos. De som injicerat insulin har fått fler hypos med den lägsta svårighetsgraden ”symptoms” och färre med svårighetsgrad ”minor” än förväntat, medan förhållandet är det omvända för gruppen som inhalerat insulinet. Om detta beror på den ökade halten antikroppar i blodet som det ger att inhalera insulin kan vi inte visa med våra data. Vi kan dock konstatera att halten antikroppar i blodet ser ut att vara något högre vid ”minor” hypos än vid den lägsta svårighetsgraden för individerna i AERx-gruppen. Båda grupperna har ungefär lika många ”major” hypos som förväntats.

## 3.2 Andel med minst en händelse

Ett enkelt och vanligt sätt att beskriva händelsedata är att titta på andelen inom varje grupp som fått en händelse (figur 3.4) och härmed reducera resultatet till en binär variabel.

### 3.2.1 Pearsons $\chi^2$ - och Fishers exakta test

Andelen med minst en hypo under sin uppföljningstid - vilken varar alltifrån en till 560 dagar - delas in efter de olika behandlingsgrupperna och jämförs där



Figur 3.4: Andel med hypo uppdelat på behandling

emellan. Andelen med hypo i varje grupp är antalet individer med minst en hypo dividerat med alla individer i gruppen.

Att uppföljningstiden för varje individ varierar så kraftigt kan vara ett problem vid den här typen av jämförelse, eftersom individer som avslutar sin medverkan tidigt löper mindre risk att hinna drabbas av en hypo. Medelvärdet för antal dagar i studien är 17 dagar längre och medianvärdet 18 dagar längre i gruppen som har injicerat insulin. Både medelvärdet och medianvärdet för alla patienter tillsammans ligger på 254 dagar.

Precis som när vi jämförde om svårighetsgrad av hypo skiljde sig åt mellan behandlingsgrupperna kan vi här göra ett Pearsons  $\chi^2$ -test för att se om andelen med hypo är signifikant olika. Eftersom vi i det här fallet har en tabell med två dikotoma variabler kan vi dessutom utföra Fishers exakta test. Fishers exakta test räknar ut den exakta sannolikheten att få det utfall vi fått, eller ett ännu mer extremt utfall, under förutsättning att nollhypotesen (samma andel med minst en hypo i de två grupperna) är sann [6].

	Censurerad	Hypo	Total
AERx	68	211	279
%	24,4	75,6	100
SC	41	255	296
%	13,9	86,1	100
Total	109	466	575
%	19,0	81,0	100

Tabell 3.3: Andel med hypo i varje grupp

Drygt tio procentenheter fler i SC-gruppen hade fått minst en hypo. Både Fishers exakta test och Pearsons  $\chi^2$ -test ( $\chi^2$ -värde=10,35) ger ett p-värde på 0,1%. Andelen med hypo är signifikant större i gruppen som behandlas med injicerat insulin.

### 3.2.2 Mantel-Haenszels $\chi^2$ -test och logistisk regression

Om vi vill kunna jämföra effektiviteten i de olika behandlingsgrupperna kan vi använda oss av Mantel-Haenszels  $\chi^2$ -test, där olika grupper jämförs med oddskvoter.

Vill vi dessutom utöka modellen med en eller flera kovariater och/eller faktorer kan vi göra en logistisk regression. I logistisk regression används, precis som med Mantel-Haenszel test, oddskvoten för att jämföra olika grupper. Oddset för en händelse definieras:

$$Odds = \frac{p_i}{1 - p_i} = e^{\beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \dots + \beta_k X_{ik}},$$

och oddskvoten för individ  $i$  blir

$$OR = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 \cdot 1 + \beta_2 X_{i2} + \dots + \beta_k X_{ik}}}{e^{\beta_0 + \beta_1 \cdot 0 + \beta_2 X_{i2} + \dots + \beta_k X_{ik}}} = e^{\beta_1}$$

Om den ena behandlingen=1 och den andra=0 anger denna kvot hur mycket högre oddset är för att få en hypo i den ena behandlingsgruppen relativt den andra.

Logit-funktionen, eller den naturliga logaritmen för oddsen, för sannolikheten  $p_i$  för individ  $i$  att få hypo blir:

$$Logit(p_i) = \ln(odds) = \ln\left(\frac{p_i}{1 - p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \dots + \beta_k X_{ik}$$

vilket i vårt fall blir

$$Logit(p_i) = \ln(odds) = \ln\left(\frac{p_i}{1 - p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{behandling} + \beta_2 \cdot \ln(\text{antikroppsvarde})_i$$

där antikroppsvärdet är antingen baselinevärdet eller maximalt uppmätta värdet före hypon; behandlingen talar om vilken grupp individen tillhör;  $\beta_0$  är interceptet och  $\beta_1$  och  $\beta_2$  är koefficienterna för behandling respektive antikroppsvarde.

Interceptet är logit (det logaritmerade oddset) för en individ som behandlats med SC som har ett antikroppsvarde på 0;  $\beta_1$  är den logaritmerade oddskvoten för individer behandlade med AERx jämfört med SC och  $\beta_2$  är den logaritmerade oddskvoten för en hypo då antikroppsvärdet ökar med en enhet, givet samma behandling. Tas antikroppsvärdet bort som förklarande variabel ur modellen blir interceptet logit för alla som behandlats med SC.

Patienternas tid i studien varierar från en till 560 dagar. En kort tid i studien borde medföra större chans att undvika hypo. För att fånga upp detta inkluderas också patientens tid i studien som förklarande variabel i en modell.

Ett av uppsatsens syften är att se om en hög halt av antikroppar ökar risken för hypo. Eftersom antikroppsvärdet varierar från dag till dag kan vi inte veta det exakta värdet vid varje hypo, men om vi väljer att utgå från det högsta värdet vi vet att patienten haft innan hypon är vår förhoppning att vi undviker att göra en för låg skattning av värdet vid hypon.

Metod	Modell	$\beta$	Medelfel	p-värde	Oddsquot $\frac{odds(AERx)}{odds(SC)}$
Mantel-Haenszel	Behandling	-0,695	0,225	0,001	0,499
Logistisk regression	Behandling	-0,695	0,219	0,001	0,499
	Behandling	-0,695	0,219	0,001	0,499
	Baseline	-0,002	0,041	0,963	0,998
	Behandling	-0,623	0,223	0,005	0,536
	Maxvärde	-0,242	0,058	<0,001	0,785
	Behandling	-0,770	0,233	0,001	0,463
	Uppföljningstid	-0,002	0,001	0,003	0,998
	Behandling	-0,747	0,221	0,001	0,474
	Baseline	-0,001	0,042	0,981	0,999
	Uppföljningstid	-0,002	0,001	0,003	0,998
	Behandling	-0,653	0,225	0,004	0,520
	Maxvärde	-0,230	0,059	<0,001	0,795
Uppföljningstid	-0,002	0,001	0,014	0,998	

Tabell 3.4: Resultat från Mantel-Haenszel och logistisk regression

I alla modellerna är behandlingsgrupp signifikant ( $p=0,1$  % respektive  $0,5$  %). Baselinevärdet har ett p-värde på  $96,3$  % och tycks alltså inte ha någon betydelse. Att koefficienten för behandling är negativ ( $-0,695$ ) indikerar att risken att få en hypo är mindre i gruppen som är kodad 1, det vill säga AERx-gruppen. Oddset att få en hypo i AERx-gruppen är cirka  $50$  % lägre än i SC-gruppen, givet samma antikroppsvärde. Det maximala antikroppsvärdet före hypo är signifikant ( $p<0,001$  %), men vi ser inga tecken på att ökat antikropps-värde skulle medföra en ökad risk för hypo. Oddsquoten för antikropps-värde ligger på  $78,5$  %.

Vad gäller tid i studien är denna variabel signifikant ( $p=0,3$  respektive  $1,4$  %) med en oddsquot på  $99,8$  %, vilket innebär att risken för hypo skulle minska med en lång tid i studien, vilket kan tyckas märkligt. De flesta som får hypos får dock sin första hypo tidigt i studien, medianvädet för AERx-gruppen ligger på  $51$  dagar och för SC-gruppen på  $38$  dagar. Typvärdena ligger på fyra respektive fem dagar efter randomiseringen. Uppföljningstiden i studien kanske inte spelar så stor roll när man tittar på andel med hypo och man har så pass långa uppföljningstider som i den här studien; individer som får hypos hinner få minst en oavsett om de observeras i  $60$  eller  $560$  dagar.

Eftersom vi vet att de som behandlas med AERx har högre antikropps-värden (se figur 3.1) och har drabbats av hypos i lägre utsträckning kan det vara en del av behandlingseffekten som vi ser i resultatet. För att se om korrelation mellan behandling och antikropps-värden är något problem i våra data tas också en tabell på detta fram.

Det finns ett tydligt samband mellan baselinevärdet och det maximala anti-kropps-värdet, men inga signifikanta korrelationer mellan behandlingsmetod och antikropps-värden. Korrelationen mellan maximalt antikropps-värde och behandling har ett p-värde på  $5,1$  %, dock ligger korrelationen på låga  $0,081$ . Max-



	Behandling p-värde	Baseline p-värde	Maxvärde p-värde	Uppföljning p-värde
Behandling p-värde	1	0,023 0,574	0,081 0,051	-0,064 0,124
Baseline p-värde	0,023 0,574	1	0,715 0,000	0,002 0,954
Maxvärde p-värde	0,081 0,051	0,715 0,000	1	0,114 0,006
Uppföljning p-värde	-0,064 0,124	0,002 0,954	0,114 0,006	1

Tabell 3.5: Korrelationer

imalt antikropps värde är också signifikant korrelerat med uppföljningstiden. Korrelationen är dock inte speciellt hög, utan ligger på 0,114.

### 3.2.3 Sammanfattning av andel med hypo

Andel med hypo var drygt tio procentenheter högre i gruppen som injicerat insulin jämfört med gruppen som inhalerat insulin (86,1 % respektive 75,6 %). Tabell 3.6 sammanfattar resultaten för Pearsons  $\chi^2$ -test, Fishers exakta test, Mantel-Haenszel och logistisk regression med oddskvoter och p-värden.

Metod	Modell	$\beta$	Medelfel	p-värde	Oddskvot
Pearsons $\chi^2$ -test	Behandling			0,001	
Fishers exakta test	Behandling			0,001	
Mantel-Haenszel	Behandling	-0,695	0,225	0,001	0,499
Logistisk regression	Behandling	-0,695	0,219	0,001	0,499
	Behandling	-0,695	0,219	0,001	0,499
	Baseline	-0,002	0,041	0,963	0,998
	Behandling	-0,623	0,223	0,005	0,536
	Maxvärde	-0,242	0,05	<0,001	0,785
	Behandling	-0,770	0,233	0,001	0,463
	Uppföljningstid	-0,002	0,001	0,003	0,998
	Behandling	-0,747	0,221	0,001	0,474
	Baseline	-0,001	0,042	0,981	0,999
	Uppföljningstid	-0,002	0,001	0,003	0,998
Behandling	-0,653	0,225	0,004	0,520	
Maxvärde	-0,230	0,059	<0,001	0,795	
Uppföljningstid	-0,002	0,001	0,014	0,998	

Tabell 3.6: Sammanfattande tabell för andelen med hypo

Risken att få en hypo är högre för dem som behandlas med injicerbart insulin. Antikropps värdet vid behandlingens start har ingen betydelse för risken att få en hypo och ökat värde under behandlingens gång tycks inte heller öka risken. Inte heller uppföljningstid är positivt associerat till risken att få en hypo, vilket kan verka konstigt. En teori är att detta kan bero på att med

så långa uppföljningstider som individerna har i den här studien så hinner de individer som tenderar få hypos att få minst en under sin observationstid.

### 3.3 Tid till första händelse, överlevnadsanalys

Överlevnadsanalys är en statistisk metod där vi analyserar hur lång tid det tar från en viss tidpunkt tills en specifik händelse inträffar. Namnet ”överlevnadsanalys” syftar på att metoden utvecklades för att mäta tiden från en viss tidpunkt (till exempel tiden från en cancerdiagnos) fram till när individen dör. Idag används överlevnadsanalyser till många andra ändamål och metoden har utvecklats till att bland annat också ta hänsyn till upprepade händelser, vilket uppenbart inte är relevant då man mäter tid till döden.

Data till överlevnadsanalyser måste minst innehålla tidpunkt för en händelsevariabel (död, hypo, hjärtinfarkt, m.m.) samt en startpunkt så tiden till händelsen, durationen, kan mätas. Dessutom innehåller överlevnadsdata oftast potentiella orsaksvariabler, olika kovariater och faktorer. I våra data är vi intresserade av att se om olika behandlingar har olika lång tid till första hypon samt om antikroppsvärdet kan påverka tiden.

Vid händelsedata är det vanligt att analysera tiden till första händelse. Detta ger resultat som är lätta att förstå. Om upprepade händelser sker oberoende av den första händelsen borde tiden till första händelsen också vara representativ för dessa.

#### 3.3.1 Funktioner i överlevnadsanalys

Om  $T$  är en livslängd definieras överlevnadsfunktionen för  $T$  som

$$S(t) = Pr(T > t) = 1 - F(t), t > 0 \quad (3.1)$$

där  $F$  är den kumulativa fördelningsfunktionen för  $T$ .  $S(t)$  är en avtagande funktion som illustrerar andelen som fortfarande riskerar en händelse (alltså ännu inte fått någon). Ibland beskrivs data istället med  $1 - S(t)$ , vilket blir andelen som haft en händelse.

Detta samband medför täthetsfunktionen

$$f(t) = \frac{dF(t)}{dt} = -\frac{dS(t)}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{Pr(t < T \leq t + \Delta t)}{\Delta t} \quad (3.2)$$

Intensitetsfunktionen – också kallad hazardfunktionen –, den momentana risken att få en händelse i tidsintervallet  $(t, t + \Delta t)$  givet att man inte haft någon vid tidpunkt  $t$ , definieras av

$$h(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{Pr(t < T \leq t + \Delta t | T \geq t)}{\Delta t} \quad (3.3)$$

eller

$$h(t) = -\frac{d \ln S(t)}{dt} \quad (3.4)$$

Syftet med definitionen i 3.3 är att hitta den omedelbara risken att få en händelse vid tidpunkt  $t$ . Att tid är en kontinuerlig variabel medför att sannolikheten att få en händelse precis vid tidpunkt  $t$  är 0. Dock kan individen få en händelse i intervallet  $t$  till  $t + \Delta t$ , oavsett hur litet intervallet är. Sannolikheten i täljaren är betingad, vilket innebär att vi beräknar sannolikheten att få en händelse i intervallet, givet att den inte redan har inträffat vid tidpunkt  $t$ . Genom att krympa intervallet  $t + \Delta t$  ( $\Delta t \rightarrow 0$ ) skapar vi således ett sätt att hitta risken att få en händelse vid tidpunkt  $t$ .

Skillnaden mellan  $f(t)$  och  $h(t)$  är att sannolikheten är betingad i den senare funktionen.

Överlevnadsfunktionen, täthetsfunktionen och intensitetsfunktionen är tre olika sätt att beskriva en kontinuerlig sannolikhetsfördelning som används i överlevnadsanalyser.

### 3.3.2 Censurering

Censurering i överlevnadsdata handlar om olika typer av bortfall. Det finns högercensurering, vänstercensurering och intervallcensurering. En censurerad observation är, oavsett typ av censurering, en observation som innehåller ofullständig information. I överlevnadsdata är förekomst av högercensurerade data vanligast och i vårt material den enda förekommande typen av censurering. Individen är högercensurerad när denne inte hann få en hypo under sin uppföljningstid, oavsett om denna varade en månad eller två år. Observationer som är censurerade finns med bland dem som riskerar en hypo fram till dess observationen censureras.

### 3.3.3 Hantering av ties

Tid till en händelse är egentligen en kontinuerlig variabel, men betraktas ofta som en diskret sådan och mäts lämpligen i timmar, dagar, veckor, månader eller till och med i år. Betraktas tid som en kontinuerlig variabel inträffar aldrig två händelser vid exakt samma tidpunkt, men då tid ses som diskret uppkommer problemet där två eller fler har en händelse vid exakt samma tidpunkt, vi får så kallade ties. I Cox-modellen finns fyra olika metoder att hantera detta: två approximationer, Breslows- och Efrons approximation, samt två exakta metoder, exakt partiell likelihood och "averaged likelihood" [7].

Breslows approximation är den äldsta varianten och är default i de flesta program. Detta är den minst exakta metoden, men fungerar bra vid relativt få ties. Efron approximerar mindre grovt och ger mer exakta resultat. Skillnaden mellan exakt partiell likelihood och averaged likelihood är att tid hanteras som en diskret variabel i den första och en kontinuerlig i den andra metoden. Utförligare beskrivning om respektive metod finns att läsa i de flesta böcker som behandlar överlevnadsanalys.

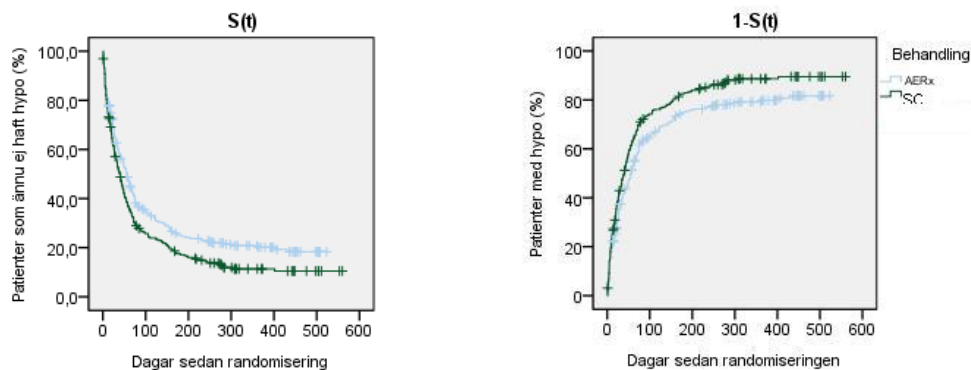
Eftersom Efrons approximation är något mer exakt än Breslows metod och vårt material innehåller en hel del ties, används denna metod vid vår analys.

### 3.3.4 Kaplan-Meier

Kaplan-Meier-skattningen är en icke-parametrisk metod och ett klassiskt sätt att beskriva tiden till första händelsen. En Kaplan-Meier plot visar andelen av patienter som ännu inte haft någon hypo och tar hänsyn till censurerade observationer. En stor begränsning med Kaplan-Meier är att det inte går att inkludera några förklarande variabler, utan händelsen ses endast som beroende av tiden. Vi kan inkludera en faktor, som behandlingsmetod, och utvärdera skillnader med till exempel ett log rank-test, men vi kan inte kvantifiera behandlingsmetoderna och jämföra risker med hazardkvoter. Censurerade observationer förväntas uppträda som de icke-censurerade, vilket kan skapa skeva skattningar i praktiken [8].

#### Log rank- och Breslows test (generaliserad Wilcoxon)

Det vanligaste sättet att jämföra överlevnadsfunktioner är med log rank-testet, vilket jämför överlevnadsfunktionerna mellan grupperna och viktar alla händelse-tidpunkter lika. Vi kan jämföra för diskreta faktorer, men inte för kontinuerliga variabler. Breslow viktar tidpunkterna efter hur många som riskerar en händelse vid varje tidpunkt. Breslows test är ett starkare test [9], men vid många censureringar ökar risken för typ I-fel (risken att förkasta en sann nollhypotes)[8]. Som tidigare nämnts kvantifieras inte behandlingseffekten i något av testen och därför kan vi inte jämföra hur mycket effektivare den ena behandlingen är relativt den andra.



Figur 3.5: Överlevnadskurvor, Kaplan-Meier

I figur 3.5 visar den vänstra bilden överlevnadsfunktionen  $S(t)$  för AERx och SC, det vill säga andelen som riskerar en hypo vid varje tidpunkt. Den högra bilden visar  $1 - S(t)$ , andelen som redan fått en hypo.

Test	$\chi^2$	P-värde
Log rank	8,311	0,004
Breslow	6,052	0,014

Tabell 3.7: Log rank- och Breslows test

Både log rank-testet och Breslows test tyder på att patienternas tid till första hypo skiljer sig åt mellan behandlingsgrupperna ( $p = 0,4\%$  respektive  $1,4\%$ ).

### 3.3.5 Cox proportionella intensitetsmodell

En mycket vanlig metod att beskriva händelsedata är med Cox proportionella intensitetsmodell (Cox proportional hazards model). Till skillnad från Kaplan-Meier så kvantifieras differensen mellan behandlingsgrupperna i Cox modell, vilket ger oss mer information om skillnaden. Ytterligare fördelar är att vi kan ta hänsyn till både faktorer och kovariater i modellen. Modellen är semi-parametrisk och består av en icke-parametrisk intensitetsfunktion (baselinefunktionen  $h_0(t)$ ) som är densamma för alla strata, samt en parametrisk del som beskriver hur intensitetsfunktionen påverkas av faktorer och kovariater.

Intensitetsfunktionen (eller hazardfunktionen), den momentana risken att få en händelse vid en specifik tidpunkt givet att man inte haft någon händelse tidigare, betecknas

$$h_i(t) = h_0(t)e^{\beta_1 X_{i1} + \dots + \beta_k X_{ik}}$$

Uttrycket beskriver att risken för individ  $i$  att få en händelse vid tidpunkten  $t$ , givet att individen inte fått någon händelse tidigare, är produkten av

- en baselinefunktion  $h_0(t)$ , som kan anta vilket positivt värde som helst
- en exponentiell funktion av en linjär funktion av  $k$  fixa kovariater.

Om vi logaritererar båda sidor och sätter  $\ln(h_0(t)) = \beta_0(t)$  får vi

$$\ln(h_i(t)) = \beta_0(t) + \beta_1 X_{i1} + \dots + \beta_k X_{ik},$$

där funktionen  $\beta_0(t)$  kan anta vilken form som helst.

Vi anpassade tre olika Cox-regressionsmodeller till våra data:

Modell 1:

$$h_i(t) = e^{\beta_0(t) + \beta_1 \cdot B_i}$$

Modell 2:

$$h_i(t) = e^{\beta_0(t) + \beta_1 \cdot B_i + \beta_2 \cdot I_i}$$

Modell 3:

$$h_i(t) = e^{\beta_0(t) + \beta_1 \cdot B_i + \beta_3 \cdot M_i},$$

där  $\beta_0$  är den icke-parametriska baselinefunktionen vid tidpunkten  $t$ ,  $B_i$  är behandling för patient  $i$  (1 för AERx och 0 för SC),  $I_i$ =logariterad initial antikropphalt innan behandling (baselinevärde) hos patient  $i$ ,  $M_i$ =logariterad maximal antikropphalt före hypo hos patient  $i$  och  $\beta_1, \beta_2$  och  $\beta_3$  är regressionskoefficienter för de olika variablerna.

Modell	Variabel	$\beta$	Medelfel	p-värde	Hazardkvot
Endast behandling	Behandling	-0,266	0,093	0,004	0,766
Behandling och baselinevärde	Behandling	-0,262	0,093	0,005	0,769
	Baseline	0,032	0,018	0,076	1,033
Behandling och maxvärde	Behandling	-0,214	0,094	0,023	0,808
	Maxvärde	-0,106	0,019	<0,001	0,899

Tabell 3.8: Resultat från Cox-regression

Precis som med logistisk regression är behandlingsskillnaden signifikant i samtliga modeller, hazardkvoterna är dock högre än oddskvoterna vid logistisk regression, vilket innebär att behandlingseffekten är mindre i Cox-regressionen. En hazardkvot på 77 % innebär att den momentana risken för att få en hypo i AERx-gruppen är 23 % lägre än i SC-gruppen vid varje given tidpunkt. Baselinevärdet är inte signifikant i modellen (p=7,6 %).

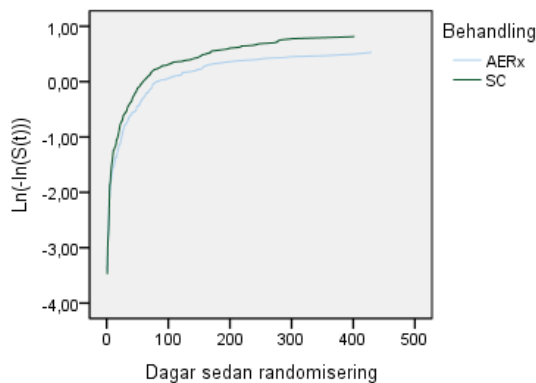
I modellen med högst uppmätta halt av antikroppar innan hypo är både behandling och maxvärde signifikanta (p=2,3 % respektive 0,0 %). Hazardkvoterna ligger på 0,81 respektive 0,90 och båda regressionskoefficienterna är negativa, vilket innebär att risken för hypo för dem i behandlingsgrupp 1=AERx är lägre och att ett ökat antikroppsvärde i vårt datamaterial minskar risken.

### 3.3.6 Proportionalitetsantagandet

En förutsättning för Cox-regression är att intensitetsfunktionerna för olika stratum är proportionella mot varandra, alltså att

$$h_i(t) = \theta h_j(t)$$

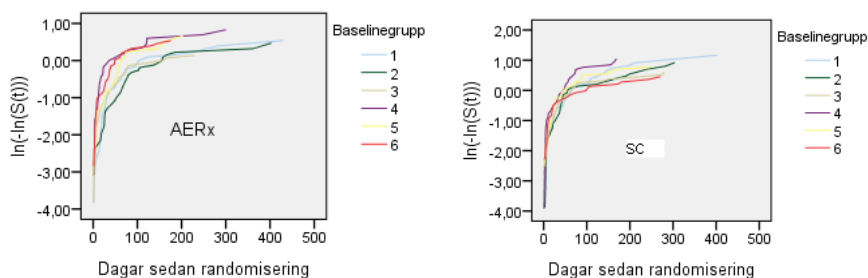
Sambandet  $\ln(-S_i(t)) = \ln\theta + \ln(-S_j(t))$  påvisar att kurvorna  $\ln(-\ln(S_i(t)))$  för olika strata är parallella då intensitetsfunktionerna är proportionella (se appendix A.1 för vidare utveckling).



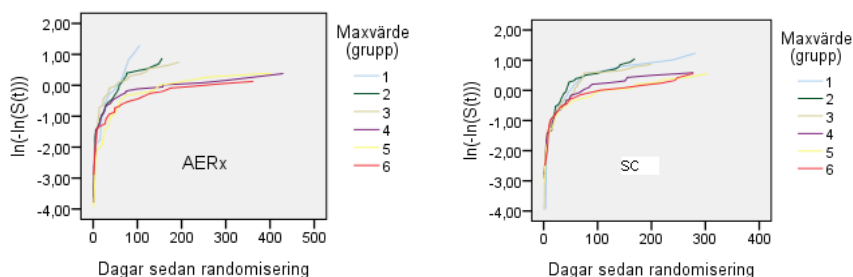
Figur 3.6:  $\ln(-\ln(S(t)))$  för de olika behandlingsgrupperna

I figur 3.6 plottas Kaplan-Meier kurvorna  $\ln(-\ln(S_i(t)))$  för varje behandlingsgrupp. Kurvorna är parallella då proportionalitetsantagandet är uppfyllt (endast med avseende på behandling). I våra data ser inte detta antagande ut att vara uppfyllt då avståndet mellan kurvorna ökar tills efter ca 100 dagar i studien.

För att undersöka intensitetsfunktionerna med antikropps värden är proportionella delar vi in individerna i sex kategorier efter antikropps värde, där 1=sjättedelen med lägst värden och 6=sjättedelen med högst värden. Uppdelningen görs både på baselinevärdet och maxvärdet innan hypo. Sedan plottas  $\ln(-\ln(S(t)))$  (varje behandlingsgrupp separat) för de sex olika kategorierna (se figurerna 3.7 och 3.8). Parallella kurvor tyder på proportionalitet i intensitetsfunktionerna.



Figur 3.7:  $\ln(-\ln(S(t)))$  för baselinevärden



Figur 3.8:  $\ln(-\ln(S(t)))$  för maxvärden

### 3.3.7 Sammanfattning av tid till första händelse

Tittar vi på överlevnadskurvorna i figur 3.5 ser vi att tid till första hypo är kortare i gruppen som behandlats med SC. Detta bekräftas då vi gör en Cox-regression med endast behandling som förklarande variabel. Kravet på proportionella intensitetsfunktioner ser inte ut att vara uppfyllt med avseende på enbart behandling (se figur 3.6) och inte heller för baselinevärde eller maxvärde innan hypo (figur 3.7 och 3.8). Precis som i den logistiska regressionen när vi såg på andelen med hypo är baselinevärdet inte signifikant medan maxvärdet innan första hypon är signifikant ( $p < 0,001$  %) med en hazardkvot på 89,9 %.

Ett högre halt antikroppar i blodet är inte associerat med en högre risk för hypo i våra data.

### 3.4 Det totala antalet händelser

När vi har händelsedata med upprepade händelser är en naturlig ansats att analysera materialet genom att titta på antal händelser per individ, och se om detta påverkas av våra olika riskfaktorer. Ett problem med analysen är att antal händelser sällan har en känd fördelning i en population. Precis som i vårt material kan det finnas några individer med extremt många händelser medan andra inte får någon alls, och att hitta en fördelning som beskriver detta kan vara en svår uppgift. Eftersom vi har individer med extremt många händelser har vi här gjort en brytning vid tionde hypon för dem som haft tio eller fler.

		Fördelning av antal hypos											
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10+	Total
SC	n	41	26	24	13	20	13	9	10	14	11	115	296
	%	13,9	8,8	8,1	4,4	6,8	4,4	3,0	3,4	4,7	3,7	38,9	100,0
AERx	n	68	33	17	18	13	14	7	10	6	8	85	279
	%	24,4	11,8	6,1	6,5	4,7	5,0	2,5	3,6	2,2	2,9	30,5	100,0
Totalt	n	109	49	41	31	33	27	16	20	20	19	200	575
	%	19,0	10,3	7,1	5,4	5,7	4,7	2,8	3,5	3,5	3,3	34,8	100,0

Tabell 3.9: Antal hypos i varje behandlingsgrupp

Med Pearsons eller Mantel-Haenszels  $\chi^2$ -test kan vi testa om antalet hypos skiljer sig åt mellan behandlingsgrupperna. Datanivån på variabeln antal hypos är med Pearsons  $\chi^2$ -test nominalskala (oordnade kategorier) medan den i Mantel-Haenszels  $\chi^2$ -test betraktas som en ordinalskala eller ordningsskala (ordnade kategorier) [10]. Även en logistisk regression där responsvariabeln inte längre är binär utan kan anta värden i en ordinalskala kan användas för att testa om antal hypos skiljer sig åt mellan grupperna.

Test	Värde	p-värde
Pearsons $\chi^2$ -test	18,98	0,041
Mantel-Haenszel	18,95	0,041
Logistisk regression	19,17	0,038

Tabell 3.10: Resultat från  $\chi^2$ -test och logistisk regression

Tabell 3.10 visar resultat av Pearsons och Mantel-Haenszels  $\chi^2$ -test samt den logistiska regressionen. Alla testen ger ett signifikant resultat (p=4,1 % för Pearson och Mantel-Haenszels, p= 3,8 % i regressionen), det vill säga att fördelningarna för antal hypos skiljer sig åt mellan de två behandlingsgrupperna.

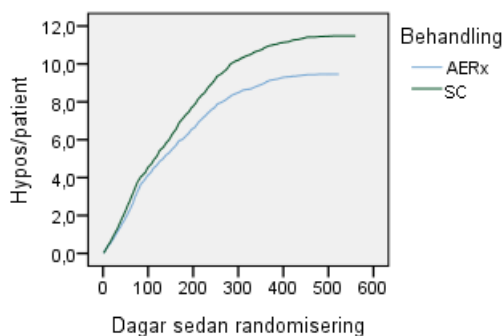


### 3.4.1 Kvoter

En enkel och tydlig ansats till att beskriva skillnader i antal händelser kan vara att uppskatta genomsnittet av hur många händelser individerna i respektive behandlingsgrupp beräknas ha. Ett sätt att skatta detta är att se på det totala antalet händelser i varje behandlingsgrupp och dividera med totala antalet dagar i varje behandlingsgrupp.

Individerna i AERx-gruppen ( $n=279$ ) hade tillsammans 2927 hypos på sammanlagt 68354 dagar i studien, vilket ger en kvot på knappt 0,043 hypos/dag eller att det i genomsnitt går drygt 23 dagar mellan varje hypo. I SC-gruppen ( $n=296$ ) hade man tillsammans 3737 hypos på 77688 dagar, vilket ger ungefär 0,048 hypos/dag eller knappt 21 dagar mellan varje hypo.

Vi kan också visa genomsnittligt antal hypos mot tiden i en plot, se figur 3.9. Vi har vi räknat ut det totala antalet hypos vid varje tidpunkt, kumulerat detta över tiden och dividerat med antal individer i behandlingsgruppen. Plotten ger en översiktlig bild och visar om effekten av de olika behandlingarna är konstant eller varierar med tiden. I figur 3.9 växer avståndet mellan behandlingarna stadigt över tiden.



Figur 3.9: Medelvärdet av antal hypos mot tiden

### 3.4.2 Poisson- och negativ binomialregression

En vanlig ansats för att analysera händelsedata med upprepade händelser är Poissonregression. Regressionsmodellen kan användas till att modellera förväntat antal händelser som en funktion av olika diskreta faktorer och kontinuerliga variabler. En förutsättning är att den beroende variabeln  $Y =$  antal händelser, som är Poissonfördelad med väntevärde  $E(Y) = \mu$  och varians  $Var(Y) = \mu$ , har samma intensitet (hypos/tidsenhet) för alla individer. Modellen för antal skattade händelser blir då:

$$\mu = e^{\beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_k X_k}$$

Om individerna har olika tid i studien kommer de också att ha olika förväntat antal hypos (längre tid i studien bör medföra fler hypos), vilket ovanstående

modell inte tar hänsyn till. Om man istället försöker modellera hypointensiteten, förväntat antal hypos/tidsenhet, och på det sättet ta hänsyn till olika lång tid i studien, används modellen (i logaritmerad form):

$$\ln(\mu/t) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_k X_k$$

vilket också kan skrivas

$$\ln(\mu) = \ln(t) + \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_k X_k$$

Vi använder alltså den vanliga Poissonregression med  $\ln(t)$  som en offset-variabel, en förklarande variabel med koefficienten fixerad till ett.

Om den skattade variansen i en Poissonmodell är mindre än den verkliga variansen har vi så kallad overdispersion. Deviansen (the deviance, saknar svensk översättning) dividerat med antalet frihetsgrader är ett sätt som används i SAS och SPSS för att mäta om data passar modellen. Värden över ett indikerar overdispersion och värden under ett indikerar underdispersion, att den skattade variansen är större än den verkliga. Vi har möjlighet att tillåta extra variation i Poissonmodellen genom att multiplicera en konstant med variansen. Det finns flera olika sätt att skatta denna konstant, vilka kan ge olika resultat [11]. Vi har använt deviansen för att korrigera overdispersion, vilket finns implementerat i både SAS och SPSS. Om man inte tar hänsyn till overdispersion innebär det i praktiken att de skattade medelfelen blir mindre än de borde ha blivit och resultaten kan bli felaktigt signifikanta.

När det finns overdispersion i Poissonregressionen är negativ binomialregression ett alternativ. För den negativa binomialfördelningen är väntevärdet  $E(Y) = \mu$  och variansen  $Var(Y) = \mu + k\mu^2$ , modellen tillåter alltså en större variation mellan patienterna. Väntevärdet är precis som i Poissonregressionen en exponentialfunktion av de förklarande variablerna.

För analys av antal hypos anpassades följande funktion till våra data:

$$\ln(\mu) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{behandling} + \beta_2 \cdot \ln(\text{baselinevärde})$$

och för att analysera hypointensiteten:

$$\ln(\mu) = \ln(\text{tid}) + \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{behandling} + \beta_2 \cdot \ln(\text{baselinevärde})$$

där behandling=1 för AERx och 0 för SC, tid är individens uppföljningstid i dagar, interceptet  $\beta_0$  visar den logaritmerade kvoten mellan behandlingarna när alla förklarande variabler är noll, vilket blir kvoten för en individ i SC-gruppen med baselinevärde=0.  $\beta_1$  och  $\beta_2$  är regressionskoefficienter för behandling respektive baselinevärde.

Både för Poissonregression och negativ binomialregression anpassades en modell med endast behandling och en modell med behandling och baselinevärde. I tabell 3.11 visas resultat från analysen av antal hypos och i tabell 3.12 hypointensitet.

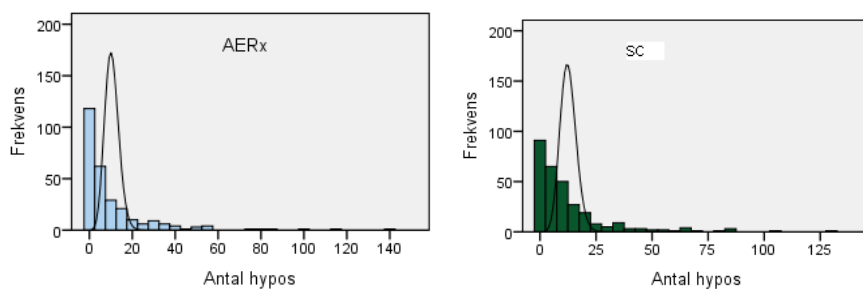
Analys	Modell	$\beta$	Medelfel	Deviance/df SAS; SPSS	p-värde SAS; SPSS
Poisson	Behandling	-0,185	0,1327	18,88	0,163
	Behandling	-0,187	0,1316	18,72	0,155
	Baseline	0,052	0,0281		0,065
Neg. Bin	Behandling	-0,185	0,1193; 0,0870	1,16; 1,97	0,121; 0,033
	Behandling	-0,246	0,1214; 0,0889	1,16; 1,95	0,043; 0,006
	Baseline	0,061	0,0236; 0,0173		0,011; 0,001

Tabell 3.11: Resultat från analys av antal hypos

Analys	Modell	$\beta$	Medelfel	Deviance/df SAS; SPSS	p-värde SAS; SPSS
Poisson	Behandling	-0,116	0,1277	16,05	0,363
	Behandling	-0,121	0,1258	15,09	0,337
	Baseline	0,051	0,0283		0,072
Neg. Bin	Behandling	-0,128	0,1132; 0,0905	1,17; 1,69	0,259; 0,161
	Behandling	-0,166	0,1146; 0,0920	1,18; 1,68	0,148; 0,070
	Baseline	0,043	0,0221; 0,0178		0,059; 0,012

Tabell 3.12: Resultat från analys av hypointensitet

I Poissonregressionerna (tabell 3.11 och 3.12) visar deviansen dividerat med antal frihetsgrader på tydlig överdispersion, vilken vi korrigerat med med hjälp av deviansen. Oavsett om analysen är antal hypos eller hypointensitet får vi då inga signifikanta variabler med Poissonregression. Modellen beskriver inte våra data väl, vilket vi också kan se i figur 3.10. Figuren visar fördelningen inom de båda behandlingsgrupperna och kurvorna visar Poissonfördelningen.



Figur 3.10: Våra data jämfört med Poissonfördelade data

När vi skattar den negativa binomialregressionen ger för första gången analyserna i SAS och SPSS olika resultat. SPSS visar en högre deviance och lägre medelfel för koefficienterna. I analysen av antal hypos medför det lägre medelfelet att behandling blir en signifikant variabel i SPSS ( $p=3,3\%$ ), men inte i SAS ( $p=12,1\%$ ) då behandling är den enda förklarande variabeln. I modellen med både behandling och baselinevärde blir båda variablerna signifikanta

i båda programmen. I analysen av hypointensitet är behandling inte signifikant medan baselinevärdet blir signifikant i SPSS, men inte i SAS.

### 3.4.3 Sammanfattning av det totala antalet händelser

Både Pearsons och Mantel-Haenzels  $\chi^2$ -test samt logistisk regression visar på signifikanta skillnader på antal hypos mellan de båda behandlingsgrupperna ( $p=4,1$  % respektive  $3,8$  %). Individerna i SC-gruppen har fler hypos än dem i AERx-gruppen. Skattar vi kvoterna beräknas en individ i SC-gruppen få en hypo var 21:a dag jämfört med var 23:e dag i AERx-gruppen. Hur medelantalet hypos/patient ser ut över tiden jämfört mellan behandlingsgrupperna kan ses i figur 3.9.

Poissonfördelningen beskriver inte vårt datamaterial väl (se figur 3.10) och ger inga signifikanta variabler. I den negativa binomialfördelningen i analysen av antal hypos ser det ut som både behandling med injicerat insulin och ett högt baselinevärde kan öka risken för att få många hypos. I analysen av hypointensitet är samma modell inte signifikant i SAS, även om baselinevärdet inte är långt därifrån ( $p=5,9$  %).

## 3.5 Tid till alla händelser

### 3.5.1 Upprepade händelser, utvidgade Cox-modeller

Ursprungligen utvecklades modellerna i överlevnadsanalys för att mäta tid till död, en händelse som av uppenbara skäl endast inträffar en gång under en livstid. När vi har data med upprepade händelser och vi bara använder tid till dess första händelsen inträffar, går mycket av informationen förlorad. Flera olika ansatser där man tar hänsyn till upprepade händelser har utvecklats, som alla är olika utvidgningar av Cox-modellen. Vi har valt att titta på tre av dem: Andersen-Gills (AG) intensitetsmodell; Wei, Lin och Weissfelds (WLW) marginalmodell och Prentice, Williams och Petersons (PWP) betingade modell. Har en individ haft mer än tio hypos gör vi, som tidigare nämnts, i det här analyserna ett avbrott efter den tionde hypon patienten anses avsluta sin tid i studien detta datum.

För att kunna ta med alla händelser i modellen kan man låta varje individ med multipla händelser riskera att få en händelse i multipla intervaller på något av följande sätt:

Antag att en individ har haft tre hypos, den första tio dagar efter studiens början, den andra 30 dagar efter start och den sista efter 100 dagar, och att samma individ avslutat studien efter 150 dagar. Patienten har då kodats som fyra observationer som riskerar att få en hypo i intervallen  $(0, 10]$ ,  $(10, 30]$ ,  $(30, 100]$  och  $(100, 150]$ . I de första tre intervallen kodas patienten som ett "fall" i intervallets slut och i det sista som censurerad. Det här sättet att mäta riskintervallen brukar användas i AG- och PWP-modellen [12].

Ett alternativ är att vi vid samma situation som i exemplet ovan skulle välja att börja om från noll varje gång individen får en hypo eller gör en ny

antikroppsmätning. Vi hade då fått fyra observationer med intervallen (0, 10], (0, 20], (0, 70] och (0, 50] för samma individ. De tre första intervallen hade precis som i föregående exempel kodats som ett fall och det sista som en censurering. Här tittar vi alltså på tidsgapet mellan två händelser (eller mellan randomisering och en händelse). Denna så kallade Gaptime-analys gör vi med AG- och PWP-metoden.

Ett tredje alternativ är att helt enkelt mäta tiden från randomiseringen till varje händelse, vilket ger intervallen (0, 10], (0, 30], (0, 100] och (0, 150] från exemplet ovan. Det här sättet används vid analyser med WLW-modellen [12].

De tre modellerna har flera egenskaper gemensamma med den ursprungliga Cox-modellen. Alla modellerna är semiparametriska med en icke-parametrisk baselinefunktion och en uppsättning parametriska regressionskoefficienter som skattas för varje modell. Den förändrade risken (hazardkvoten) för varje variabel ges av  $\beta$ -koefficienten för respektive variabel då de andra hålls fixa. Man skattar modellerna genom att först anpassa parametrarna som i en enkel Cox-regression utan att ta hänsyn till eventuell korrelation mellan förklarande variabler. Den skattade variansen ersätts sedan med en så kallad sandwich skattning av denna, det vill säga en robust skattning (en skattning som inte förutsätts anta någon specifik fördelning) [7].

I PWP- och WLW-modellerna skattas hazardkvoterna för varje specifikt stratum (stratum=ordning av hypo). Vill vi ha en totalskattning av hazardkvoten summeras de logaritmerade likelihood-skattningarna för varje stratum till en logaritmerad likelihood-skattning för den totala risken [13]. Vi antar att effekten av antikroppar och behandling är oberoende av vilken hypo i ordningen det är och fokuserar därför endast på den totala riskskattningen.

### 3.5.2 Tidsberoende kovariater

I våra tidigare analyser har vi inte tagit hänsyn till att antikroppsvärde är en kovariat som varierar över tiden, det vill säga är tidsberoende. Man har mätt halten antikroppar i blodet med oregelbundna intervall, mellan en och åtta gånger per individ under deras tid i studien. I de utvidgade modellerna har vi format dataseten som vi beskrivit i avsnitt 3.5.1 och på det sättet inkluderat informationen om de olika antikroppsnivåerna i modellerna. Modellen vi anpassar till våra data blir nu:

$$\ln(h_i(t)) = \beta_0(t) + \beta_1 \cdot \text{behandling}_i + \beta_2 \cdot \ln(\text{antikroppar}_i)(t),$$

där risken beror på vilken behandling man får (0=SC 1=AERx), samt på antikroppshalten vid tidpunkt  $t$ . I AG-metoden läggs ytterligare en tidsberoende variabel till; antal föregående händelser vid tidpunkten för den aktuella.

### 3.5.3 Akaikes informationskriterium

I de fall vi testar flera olika modeller finns olika metoder för att ta fram den modell som beskriver materialet bäst. Akaikes informationskriterium (AIC) är

ett av de mått som används för att hitta modellen som bäst beskriver data, med så få parametrar som möjligt. AIC definieras av uttrycket

$$AIC = -2\ln(\hat{L}) + 2m,$$

där  $m$  är antalet fria parametrar i modellen och  $\hat{L}$  är maximum likelihood för den skattade modellen [14]. Kriteriet mäter hur nära våra data den skattade modellen kommer, och ett lägre värde innebär att modellen bättre beskriver data. Eftersom värdet ökar ju fler parametrar som inkluderas, minskar vi risken att onödiga variabler inkluderas, det vill säga att modellen blir överanpassad.

### 3.5.4 Andersen och Gills intensitetsmodell

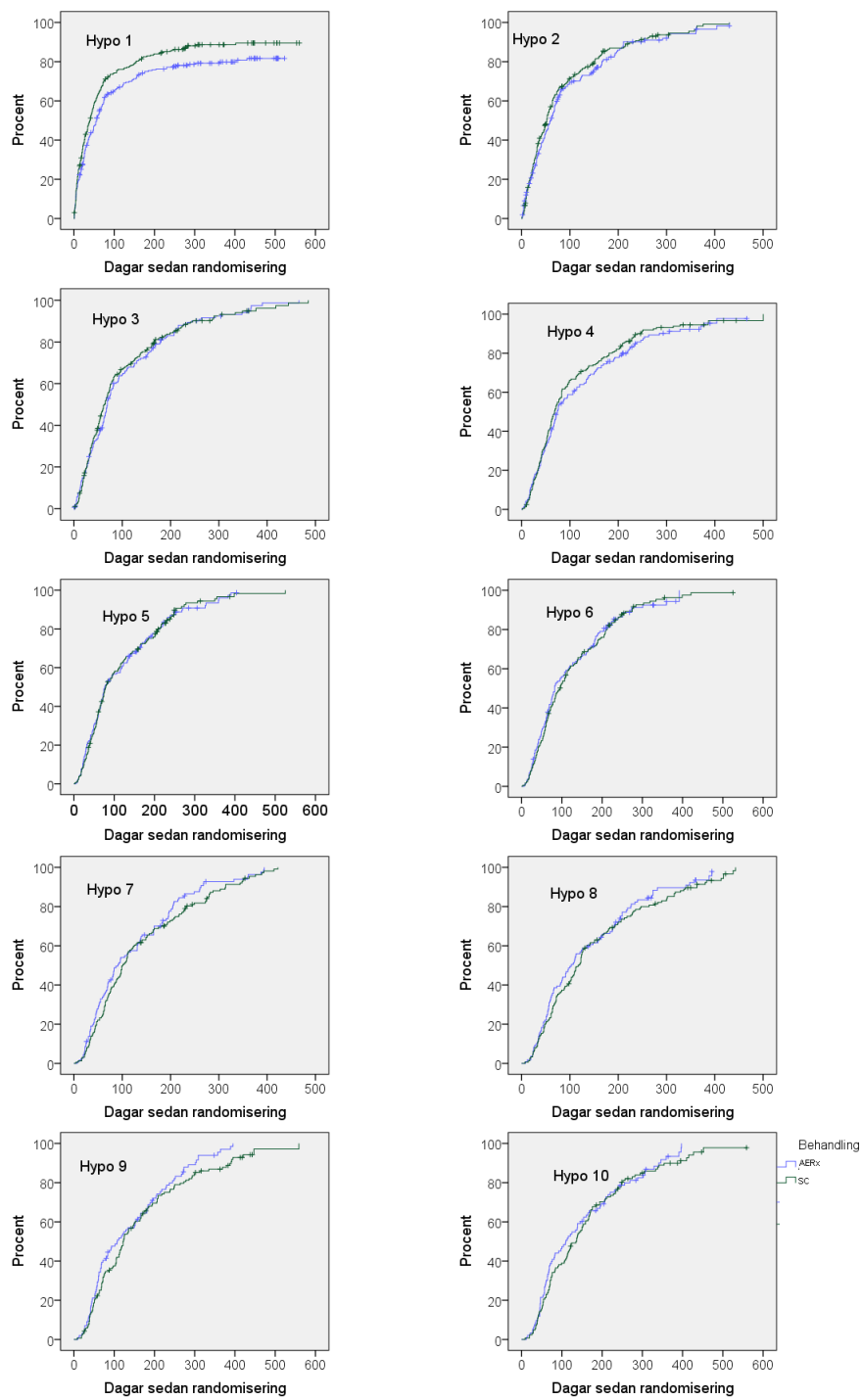
Andersen och Gills metod är den enklaste och den med starkast antaganden av de utvidgade Cox-modellerna. Förutsättningarna för metoden liknar dem för Poissonregression på så sätt att båda förutsätter oberoende mellan händelser för varje individ och att intensitetsfunktionerna ser likadana ut för alla ordningar av hypos. I AG-modellen tar man dock hänsyn till tiden till händelserna och baselinefunktionen behöver inte anta någon given form.

Eftersom varje händelse ses som oberoende av de övriga behöver inte händelserna ordnas, men för att fånga upp eventuellt beroende mellan händelser kan en tidsberoende kovariat som mäter antal händelser individen haft vid tidpunkten för den aktuella händelsen inkluderas i modellen.

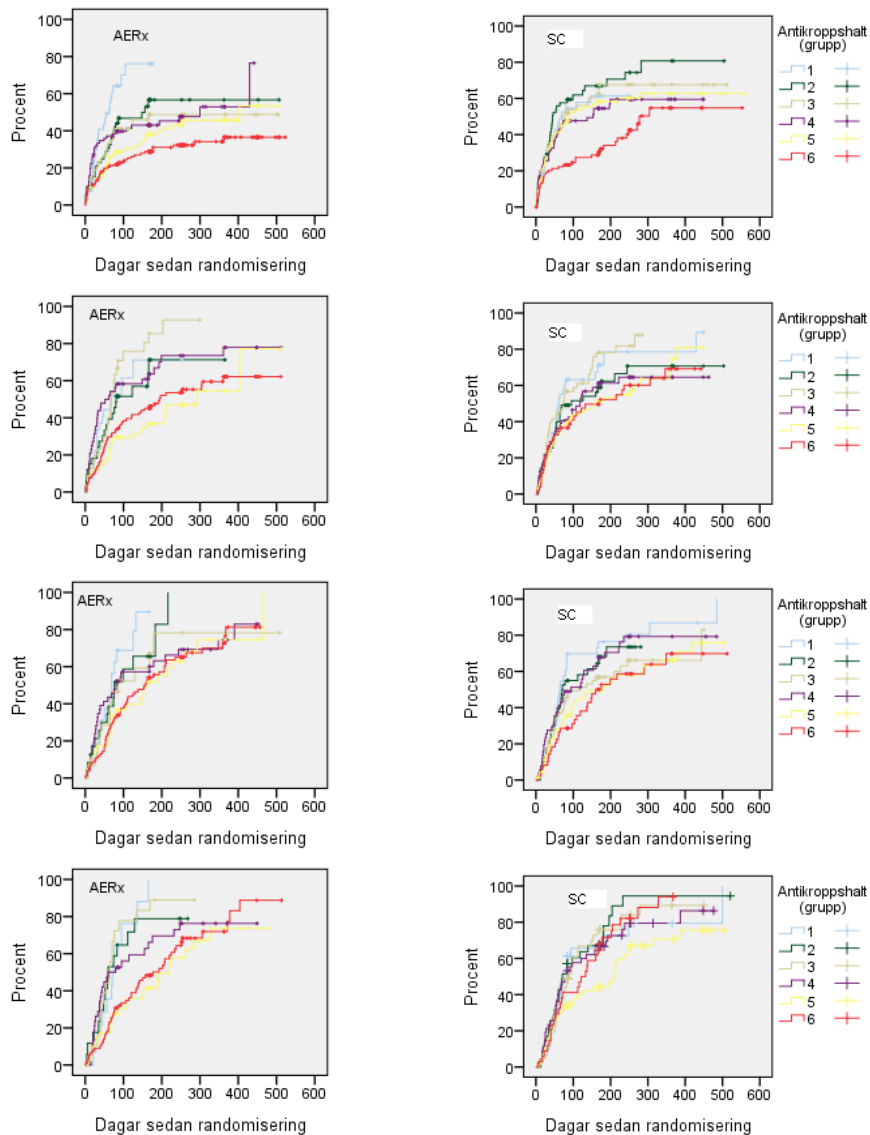
För att se om antagandet om att intensitetsfunktionen är likadan för alla ordningar av hypos är uppfyllt kan vi jämföra plottarna i figur 3.11. Är kurvorna för respektive behandlingsmetod identiska med varandra i alla plottar är antagandet om konstant baselinefunktion uppfyllt. Tittar vi i vänstra halvan av diagrammen stiger kurvorna snabbare för de två första ordningarna än för de efterföljande. Risken minskar alltså efter andra hypon. Här har ingen hänsyn tagits till antikroppsvärde, utan endast behandlingseffekten. I figuren syns också att behandlingseffekten är störst vid första hypon. Efter denna ser effekten ut att avta eller till och med försvinna helt.

För att se om antikroppsvärdet påverkar risken att få en hypo har vi här, precis som i den enklare Cox-regressionen, delat in observationerna i sex kategorier där 1=sjättedelen med lägst baselinevärden av antikroppar och 6=sjättedelen med högst värden. Vi har sedan tittat på en behandlingsgrupp åt gången och sett om antikroppsvärdet har någon betydelse för risken för hypo. I figur 3.12 syns plottarna för de fyra första ordningarna av hypo. Det ser inte ut som om en högre antikroppshalt skulle innebära en högre risk för hypo, vare sig för AERx-gruppen eller SC-gruppen. Snarare visar figurerna på det motsatta: en lägre antikroppshalt ger en högre risk för hypo. Indikationen är tydligast för första och andra hypon och lite tydligare i AERx-gruppen.

Vi har också tittat på motsvarande kurvor för  $\ln(-\ln(S(t)))$  (se figur 3.13) för att se om antagandet om proportionella intensitetsfunktioner kan vara rimligt. Kurvorna ser inte ut att vara parallella för de olika kategorierna av antikroppshalt.



Figur 3.11:  $1-S(t)$  för hypo 1-10, betingat föregående hypo

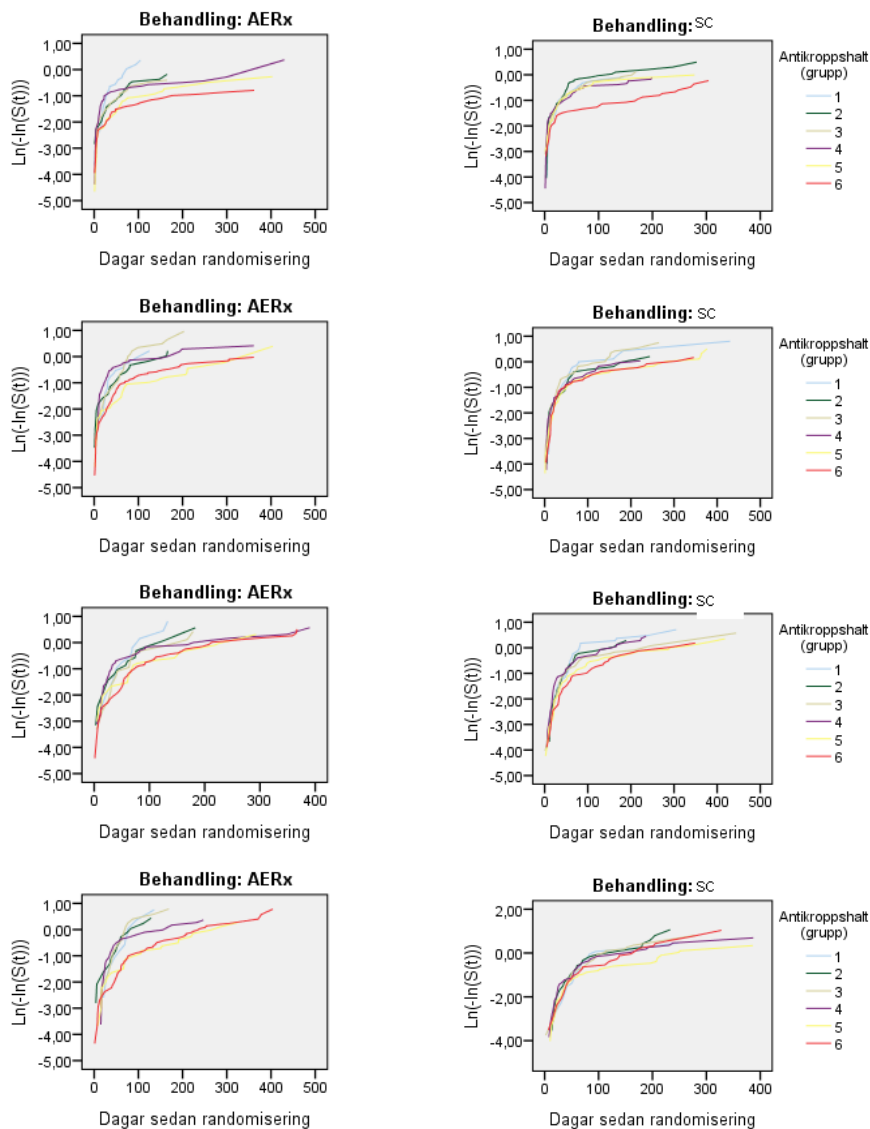


Figur 3.12:  $1-S(t)$  för hypo 1-4, betingat och uppdelat på antikropshalt

I regressionerna har vi i en av modellerna valt att endast inkludera antikropshalten, för att se om uteslutandet av behandling har någon betydelse för resultatet. Therneau visar i exemplet "Hidden covariate data" att AG-modellen ger nästintill korrekta skattningar av effekterna – dock ett underskattat medelfel – av signifikanta variabler även då en viktig förklarande variabel är utesluten ur modellen [12].

Med AG-metoden där tid är tid sedan randomisering (totaltid, se tabell 3.13) blir behandling signifikant ( $p=1,4\%$ ) i modellen med endast behandling som





Figur 3.13:  $\ln(-\ln(S(t)))$  för hypo 1-4, betingat och uppdelat på antikroppsvärde

förklarande variabel och även i modellen med antikroppsvärde ( $p=4,16\%$ ). Antikroppar är inte signifikant i någon modell trots att vi i figur 3.12 kunnat se ett visst samband mellan en hög halt av antikroppar och en lägre risk för hypo. Antal tidigare hypos är tydligt signifikant ( $p<0,01\%$ ).

Jämför vi dessa resultat med den enkla Cox-regressionen där vi endast tog hänsyn till första hypon är hazardkvoterna något högre och medelfelen något lägre i AG-modellen. De högre kvoterna innebär att vi får mindre skillnad mellan

Modell	Variabel	$\beta$	Robust medelfel	Hazard-kvot	p-värde	AIC
Endast behandling	Behandling	-0,1977	0,0807	0,821	0,0143	34806
Endast antikroppar	Antikroppar	-0,0198	0,0162	0,980	0,2195	34011
Behandling och antikroppar	Behandling	-0,1673	0,0821	0,846	0,0416	33994
	Antikroppar	-0,1411	0,0164	0,986	0,3893	
Behandling, antikroppar och antal tidigare hypos	Behandling	-0,0618	0,0538	0,940	0,2511	32340
	Antikroppar	-0,0099	0,0105	0,990	0,3478	
	Tidigare hypos	0,2882	0,0102	1,334	<0,0001	

Tabell 3.13: Resultat från Andersen och Gills metod (totaltid)

behandlingarna när vi tar hänsyn till alla hypos. Efter att ha tittat på figur 3.11 verkar detta rimligt. Kvoterna för behandling i den negativa binomialmodellen är högre än i AGs modell, dock saknas signifikanta förklarande variabler i den förra. Medelfelen är något lägre i jämförelse, 0,08 i AG mot 0,11 i negativ binomialregression.

Modell	Variabel	$\beta$	Robust medelfel	Hazard-kvot	p-värde	AIC
Endast behandling	Behandling	-0,1495	0,0735	0,861	0,0418	44822
Endast antikroppar	Antikroppar	-0,0689	0,0133	0,933	<0,0001	43756
Behandling och antikroppar	Behandling	-0,0706	0,0747	0,932	0,3447	43754
	Antikroppar	-0,0661	0,0135	0,936	<0,0001	
Behandling, antikroppar och antal tidigare hypos	Behandling	0,0130	0,0653	1,013	0,8432	43368
	Antikroppar	-0,0819	0,0118	0,921	<0,0001	
	Tidigare hypos	0,1294	0,0096	1,138	<0,0001	

Tabell 3.14: Resultat från Andersen och Gills metod (gaptime)

I tabell 3.14 ser vi att behandling även i gaptime-analysen är signifikant då detta är den enda förklarande variabeln ( $p=4,2\%$ ). I modellerna med kovariater blir behandling icke-signifikant medan båda kovariaterna är signifikanta ( $p<0,01\%$ ).

Akaikes informationskriterium är lägst för modellerna som inkluderar alla tre förklarande variabler (både totaltid sedan randomiseringen och gaptime), dessa modeller beskriver alltså våra data bäst.

AG-modellen är lämpligast att implementera där antagandet om oberoende händelser för en individ är uppfyllt [7]. Antal föregående händelser är signifikant i våra data, händelserna är alltså inte oberoende av varandra. I båda AG-analyserna är det tydligt att hypointensiteten är positivt associerad till ett ökande antal föregående hypos. Dessutom tycks antagandet om proportionella intensitetsfunktioner inte uppfyllt.

### 3.5.5 Prentice, Williams och Petersons betingade modell

Prentice, Williams och Petersons introducerade 1981 en utvidgad Cox-modell som skiljer sig från Andersen och Gills modell på så sätt man i modellen ordnar händelserna och stratifierar utifrån händelseordning. En individ som har tre händelser riskerar sin tredje händelse först efter det att den har fått sina två första. Modellen tillåter baselinefunktionen bero på ordning av händelse och variera mellan olika strata, till skillnad från AG-modellen där baselinefunktionen hålls konstant över alla händelser. Dock antas hazardkvoten vara den samma för alla strata.

Precis som med AG-metoden har vi låtit hazarden bero både på tid sedan randomisering (totaltid) och sedan senaste hypo/mätning (gaptime).

Modell	Variabel	$\beta$	Robust medelfel	Hazard-kvot	p-värde	AIC
Endast behandling	Behandling	-0,0288	0,0500	0,972	0,5652	20393
Endast antikroppar	Antikroppar	-0,0154	0,0102	0,985	0,1314	19865
Behandling och antikroppar	Behandling	-0,0058	0,0510	0,994	0,9098	
	Antikroppar	-0,0152	0,0103	0,985	0,1400	19867

Tabell 3.15: Resultat från PWP (totaltid)

I tabell 3.15 visas resultaten från totaltidanalysen. Varken behandling eller antikroppsvärde blir signifikant i någon modell, precis som med AG-regressionerna där tid=totaltid. Medelfelen ligger något lägre än totaltidanalysen med AGs metod. AIC är lägst för modellen med bara antikroppsvärde som förklarande variabel.

Modell	Variabel	$\beta$	Robust medelfel	Hazard-kvot	p-värde	AIC
Endast behandling	Behandling	-0,0526	0,0622	0,949	0,3979	33933
Endast antikroppar	Antikroppar	-0,0791	0,0114	0,924	<0,0001	33012
Behandling och antikroppar	Behandling	0,0525	0,0637	1,054	0,4104	
	Antikroppar	-0,0815	0,01148	0,922	<0,0001	33012

Tabell 3.16: Resultat från PWP (gaptime)

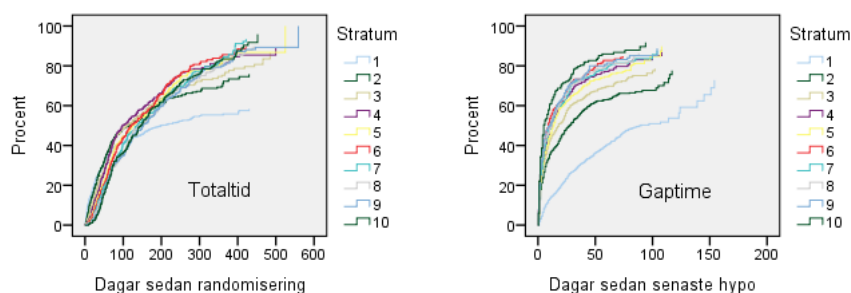
I gaptime-analysen (tabell 3.16) blir regressionskoefficienterna större än när risken beror på tid sedan randomisering (se tabell 3.15). Skattningarna och medelfelen för antikroppsvärde ligger mycket nära dem för regressionerna med AGs metod där tid=gaptime och är, precis som i den analysen, signifikanta ( $p < 0,01$  %). Modellen med båda variablerna och den med endast antikroppar har samma värde på AIC.

Eftersom individerna bara finns med i de strata då de haft föregående ordning av hypo bibehålls inte randomiseringen för senare strata med PWPs metod. I senare strata är det färre individer som riskerar hypo, vilket får till följd att

varje individs utfall får större vikt i skattningen av hazardkvoter. När hazardkvoten vägs över alla strata riskerar då totalskattningen av behandlingseffekten att bli skev [7]. Vi ser i tabellerna 3.15 och 3.16 att skattningen av behandlingseffekten är lägre med båda PWP-metoderna jämfört med motsvarande AG-metoder. I AG-modellen stratifierar vi inte, vilket gör att problemet med skeva skattningar i senare strata undviks.

I våra data ser det ut som om den behandlingseffekt vi sett när vi analyserat tid till första händelse mer eller mindre försvinner efter första hypon. Med stratumspecifika skattningar med PWPs metod (både totaltid och gaptime) är behandlingseffekten signifikant endast för stratum ett. Stratumspecifika parameterskattningar och hazardkvoter finns i appendix, tabell A.1 och A.2.

För att illustrera skillnaden på totaltid och gaptime har vi i figur 3.14 plottat  $1 - S(t)$  för alla stratum, utan att ta hänsyn till behandlingseffekt eller effekt av kovariaten, för båda analyserna. Här syns att skillnaden mellan olika strata är större med gaptime-analysen, speciellt i vänstra halvan av diagrammen (i början av studien). Efter stratum tre är överlevnadskurvorna mycket lika varandra, inom samma analys.

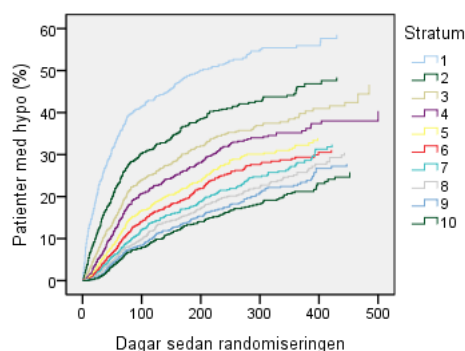


Figur 3.14:  $1 - S(t)$  för alla strata i PWP-modellen

### 3.5.6 Wei, Lin och Weissfelds marginalmodell

Wei, Lin och Weissfeld stratifierar i sin modell de olika händelserna i olika stratum, men betraktar händelserna som oordnade och ser varje stratum som en annan typ av händelse istället för, som i PWP-metoden, olika ordning. Antagandet om oberoende mellan händelser behövs då inte längre [15]. Varje individ finns med i risksetet för alla stratum (antal stratum=max antal hypos för någon individ=tio), oavsett hur många hypos individen haft. En individ utan hypos riskerar alltså att få både en första och en tionde hypo, och alla där emellan. I och med att individen riskerar alla ordningar av hypos i WLW-metoden, bibehålls randomiseringen för alla strata och problemet med skeva skattningar som vi har med PWP-metoden försvinner [16].

Plot 3.15 visar överlevnadskurvorna då varje individ finns med i alla stratum, utan hänsyn till behandlingseffekt eller effekt av antikroppar.



Figur 3.15:  $1-S(t)$  för stratum 1-10, obetingat

I WLW-modellen tillåts, precis som i PWP-modellen, baselinefunktionen och regressionsparametrarna att variera mellan de olika typerna av händelser (olika stratum), medan hazardkvoterna fortfarande antas konstanta. Tiden mäts från randomiseringsdatum.

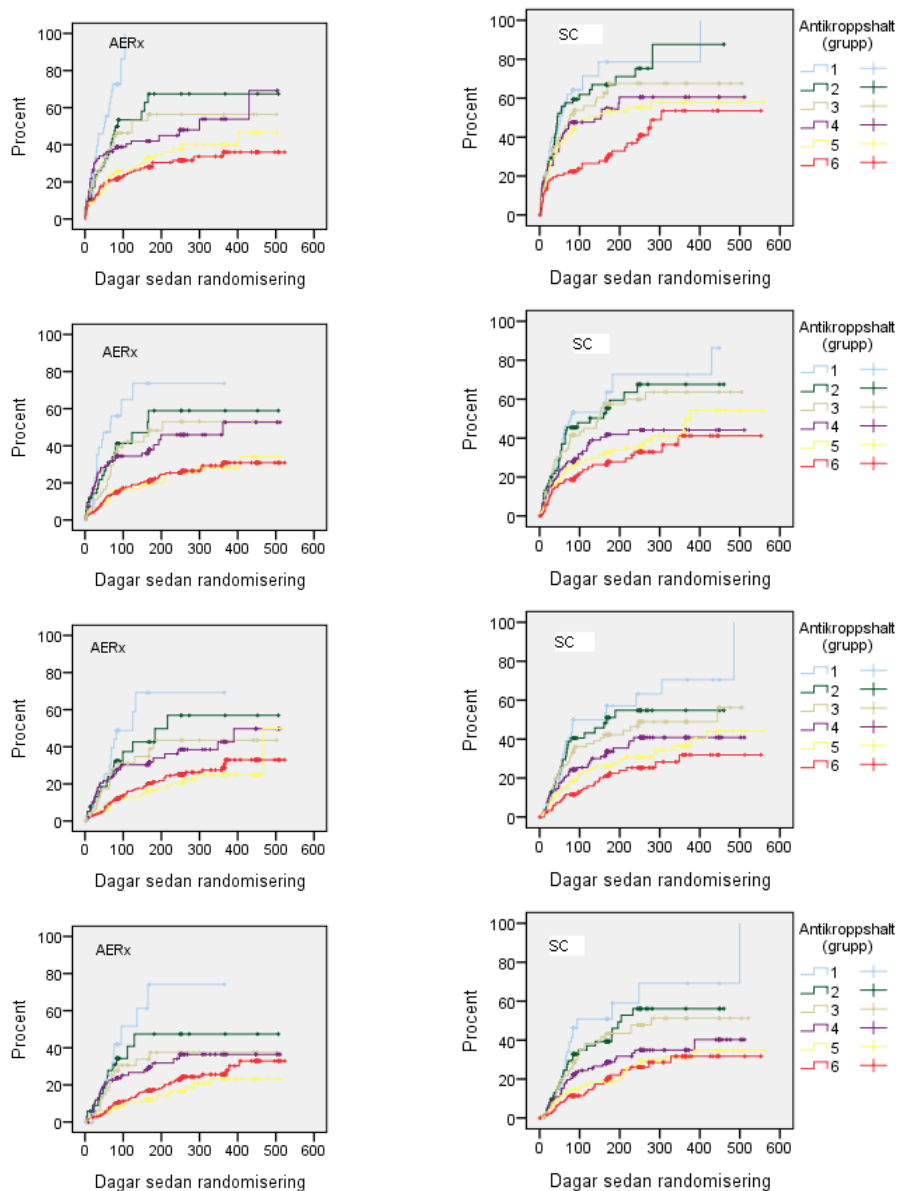
Modell	Variabel	$\beta$	Robust medelfel	Hazardkvot	p-värde	AIC
Endast behandling	Behandling	-0,3461	0,1367	0,707	0,0114	40505
Endast antikroppar	Antikroppar	-0,1864	0,0262	0,830	<0,0001	39167
Behandling och antikroppar	Behandling	-0,1527	0,1393	0,858	0,2730	39153
	Antikroppar	-0,1791	0,0266	0,836	<0,0001	

Tabell 3.17: Resultat från WLW-metoden

Tabell 3.17 visar resultat från WLW-metoden. Med den här metoden får vi större behandlingseffekt än med de andra utvidgade Cox-modellerna. Anledningen kan vara att metoden viktar hazarderna för alla strata lika (eftersom alla individer finns med i alla strata) och med färre events på senare strata kan dessa få större betydelse för resultatet än med PWP-metoden. Ett sätt att undersöka detta är att skatta stratumspecifika parametrar för PWP och WLW och sedan se hur uppsättningarna av skattningar och medelfel för skattningarna skiljer sig mellan strata och metoder. Stratumspecifika skattningar för båda metoderna finns i appendix, tabell A.1, A.2 och A.3. Med de stratumspecifika skattningarna för WLW-metoden är antikroppar signifikant ( $p < 0,01$  %) i alla stratum och behandling inte i något.

Eftersom antikroppsvärdet är signifikant i WLW-metoden och vi vill se närmare på detta gör vi som tidigare och delar in observationern i sex olika kategorier efter antikroppshalt, där 1=gruppen med lägst värden och 6=gruppen med högst värden. Figur 3.16 visar  $1-S(t)$  för hypo 1-4 uppdelat på behandlingsgrupper.

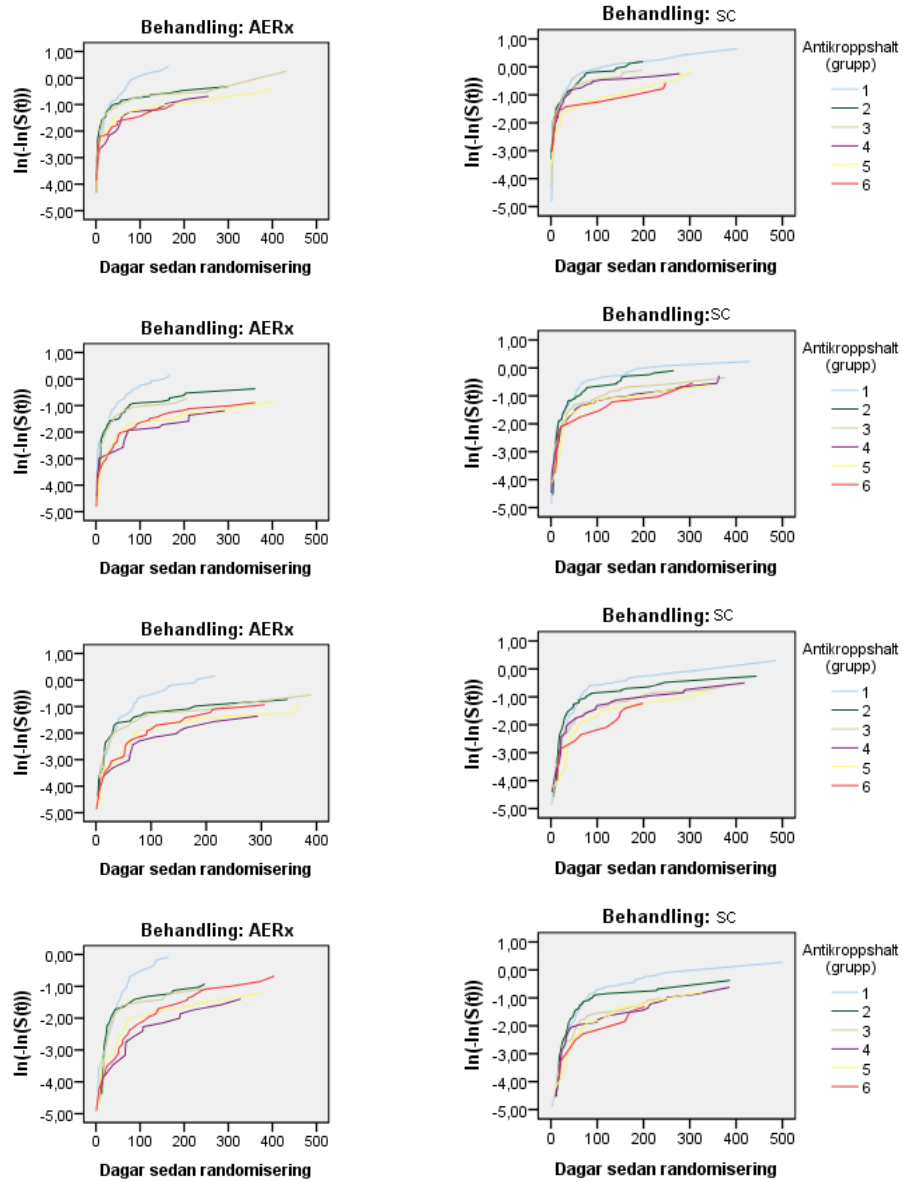
Kurvan (figur 3.16) är i vänstra delen av diagrammen mindre brant för de med högst halt av antikroppar i blodet (grupp 6), vilket skulle indikera att dessa löper lägre risk att drabbas av hypo. Skillnaden mot de med lägst halt antikroppar (grupp 1) är tydligast för de som inhalerar insulin.



Figur 3.16:  $1-S(t)$  för hypo 1-4, obetingat och uppdelat på antikropsgrupp.

Även med WLW-metoden gör vi en koll om intensitetsfunktionerna kan anses proportionella på samma sätt som tidigare. I figur 3.17 visas  $\ln(-\ln(S(t)))$  för

hypo 1-4. Kurvorna kan inte anses parallella.



Figur 3.17:  $\ln(-\ln(S(t)))$  för hypo 1-4, obetingat och uppdelat på antikropsgrupp.

### 3.5.7 Sammanfattning av de utvidgade Cox-modellerna

Behandlingseffekten som vi kunde se i den enkla Cox-regressionen tycks försvinna när vi tar hänsyn även till efterföljande händelser. Händelserna sker inte oberoende av varandra, vilket vi kan se då variabeln antal tidigare hypos är signifikant med en hazardkvot på 1,33. Att man tidigare fått hypos ökar alltså risken för att få flera. Antikroppsvärde blir i gaptime-analyserna (med AGs och PWP's metoder) och med WLW-metoden också signifikant. I våra data kan en hög halt av antikroppar i blodet ses ge lägre risk för hypo.



## Kapitel 4

# Sammanfattning och diskussion

Vid jämförelsen av hypons svårighetsgrad mellan de olika behandlingsgrupperna kan vi konstatera att de som injicerat insulin har fått fler hypos av den mildaste svårighetsgraden ("symptoms") och färre av den måttliga graden ("minor") än de som inhalerat insulin. Vi kan också konstatera att de som inhalerat insulin har en högre halt antikroppar i blodet. Möjligen kan en mycket svag antydning om att en högre halt antikroppar kan ge en högre svårighetsgrad av hypo kunde skönjas för de två lägre graderna av hypo hos gruppen som inhalerat insulin. Hos gruppen som injicerat insulin ses inget samband mellan en högre halt av antikroppar i blodet och svårighetsgrad av hypo.

Andelen med hypo är signifikant olika mellan de två behandlingsgrupperna; i gruppen som inhalerar insulin är andelen som inte får någon hypo större. Även det genomsnittliga antalet hypos varje individ får är lägre i AERx-gruppen.

I Kaplan-Meier-plottarna i figur 3.5 kan man se behandlingseffekten på tid till första hypo. Cox-regressionen visar också att skillnaden mellan behandlingarna är signifikant med en hazardkvot på knappt 77 %. Behandling spelar alltså roll när det gäller tid till första hypon och patienterna som inhalerar insulin löper 23 % lägre risk att drabbas av en hypo än de som injicerar insulin vid varje given tidpunkt. Efter den första hypon tycks behandlingseffekten dock avta, se figur 3.11. Här syns  $1-S(t)$  för de tio första ordningarna av hypo uppdelat på behandlingsgrupp, betingat på föregående hypo. För den första hypon är behandlingseffekten tydlig, men för de efterföljande tycks denna ha avtagit eller till och med försvunnit. Efter den första hypon tycks vilken behandling du får spela mindre roll för hur stor risken för en ny hypo är.

Halten av antikroppar i blodet är som sagt generellt högre hos individerna som inhalerar insulin. Denna högre halt har inte kunnat visas öka risken hypo eller öka hypointensiteten, men då vi gör en negativ binomialregression med antal hypos som svarsvariabel visar sig det ursprungliga antikroppsvärdet

(baselinevärdet) vara positivt associerat med antal hypos ( $p=1,1$  %). Regressionskoefficienten för baselinevärde blir även i analysen för hypointensitet positiv, men variabeln inte signifikant ( $p=5,9$  %).

Varken med de enkla eller med de mer komplexa Cox-regressionerna har ett högt antikroppsvärde setts öka risken för hypo, utan snarare ha en motsatt effekt. Trots detta är baselinevärdet signifikant när vi ser på antal hypos (och nästan signifikant när vi tittar på hypointensiteten). Möjligen kan ett högt ursprungligt antikroppsvärde innebära en ökad risk för hypo, utan att risken för den skull behöver öka när antikroppsvärdet höjs.

I denna uppsats har vi använt metoder för att beskriva och analysera händelsedata. Metoder för att utvärdera de olika modellerna har vi lämnat därhän. Utvärdering av analyserna är självklart en stor och viktig del när en modell ska antas, men är inte en del av uppsatsens syfte.

# Litteraturförteckning

- [1] Borg H. (2002). Antigen-specific islet antibodies: prediction of beta cell failure and differentiation between Type 1 and Type 2 diabetes. Diss. 2002, Lunds universitet.
- [2] Klasén McGrath M, Vårdguiden. (2009). Diabetes Mellitus. Texten finns på [www.vardguiden.se/Sjukdomar-och-rad/Omraden/Sjukdomar-och-besvar/Diabetes-mellitus/](http://www.vardguiden.se/Sjukdomar-och-rad/Omraden/Sjukdomar-och-besvar/Diabetes-mellitus/). Hämtad i augusti 2010.
- [3] Fineberg S.E., Kawabata T., Finco-Kent D., Liu C., Krasner A. (2005). Antibody Response to Inhaled Insulin in Patients with Type 1 or Type 2 Diabetes. An Analysis of Initial Phase II and III Inhaled Insulin (Exubera) Trials and a Two-Year Extension Trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90; 3287-3294.
- [4] Net Resources International, Drugdevelopment-technology.com. Exubera - Inhaled Insulin for Type 1 and Type 2 Diabetes. Artikeln finns på [www.drugdevelopment-technology.com/projects/exubera/](http://www.drugdevelopment-technology.com/projects/exubera/). Hämtad i augusti 2010.
- [5] Statistical Review and Evaluation. (2004). Treatment of adult patients with Type 1 or Type 2 diabetes mellitus for the control of hypoglycemia. U.S. Department of Health and Human Services, December 2004.
- [6] Körner S., Wahlgren L. (2006). *Statistisk Dataanalys*. Fjärde upplagan. Studentlitteratur, Lund.
- [7] Therneau T.M., Grambsch P. (2000). *Modeling Survival Data – Extending the Cox Model*. Springer, New York.
- [8] Kaplan E.L., Meier P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete data. *Journal of the American Statistical Association* 53: 457-481
- [9] Collett D. (2003). *Modeling Survival Data in Medical Research*. Andra upplagan. Chapman & Hall, London.
- [10] Göthberg M. (2006). Endpoints in Clinical Trials Investigating the Use of Hormone Replacement Therapy in Menopausal Women. Examensarbete 2006:18, Stockholms universitet.
- [11] McCullagh P., Nelder J.A. (1989). *Generalized Linear Models*. Andra upplagan. Chapman & Hall, London.

- [12] Therneau T.M. (1996). Extending the Cox Model. Technical Report Number 58. Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, November 1996.
- [13] McLain A. (2007). Marginal Models for Cox Proportional Hazards Regression. Current and Future Trends in Nonparametrics. Columbia, South Carolina. October 2007.
- [14] Collett D. (1994). *Modeling Survival Data in Medical Research*. Chapman & Hall, London.
- [15] Wei L.J., Lin D.Y., Weissfeld J. (1989). Regression analysis of multivariate incomplete failure time data by modeling marginal distributions *Journal of the American Statistical Association* 84: 1065-1073.
- [16] Tikkanen M.J., Szarek M., Fayyad R., Holme I., Cater N.B., Faergeman O., Kastelein J.J.P., Olsson A.G., Larsen M.L., Lindahl C., Pedersen T. R. (2009). Total Cardiovascular Disease Burden: Comparing Intensive With Moderate Statin Therapy: Insights From the IDEAL (Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering) Trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 54; 2353-2357.
- [17] Chow S-C. (2010). *Encyclopedia of Biopharmaceutical Statistics*. Tredje upplagan. Informa Healthcare, London.
- [18] Ghosh S. (2007). Statistical Modeling of Longitudinal Survey Data with Binary Outcome. Diss. December 2007, University of Saskatchewan, Kanada.

# Figurer

2.1	Antal hypos . . . . .	7
3.1	Halt av antikroppar mot tiden . . . . .	10
3.2	Hypons svårighetsgrad uppdelad på behandlingsform . . . . .	10
3.3	Boxplot av halt av antikroppar mot svårighetsgrad . . . . .	12
3.4	Andel med hypo uppdelat på behandling . . . . .	13
3.5	Överlevnadskurvor, Kaplan-Meier . . . . .	19
3.6	$\ln(-\ln(S(t)))$ för de olika behandlingsgrupperna . . . . .	21
3.7	$\ln(-\ln(S(t)))$ för baselinevärden . . . . .	22
3.8	$\ln(-\ln(S(t)))$ för maxvärden . . . . .	22
3.9	Medelvärdet av antal hypos mot tiden . . . . .	24
3.10	Våra data jämfört med Poissonfördelade data . . . . .	26
3.11	$1-S(t)$ för hypo 1-10, betingat föregående hypo . . . . .	30
3.12	$1-S(t)$ för hypo 1-4, betingat och uppdelat på antikroppsvärde . . . . .	31
3.13	$\ln(-\ln(S(t)))$ för hypo 1-4, betingat och uppdelat på antikroppsvärde . . . . .	32
3.14	$1-S(t)$ för alla strata i PWP-modellen . . . . .	35
3.15	$1-S(t)$ för stratum 1-10, obetingat . . . . .	36
3.16	$1-S(t)$ för hypo 1-4, obetingat och uppdelat på antikropsgrupp. . . . .	37
3.17	$\ln(-\ln(S(t)))$ för hypo 1-4, obetingat och uppdelat på anti-kropsgrupp. . . . .	38

# Tabeller

3.1	Sammanfattande statistik . . . . .	9
3.2	Behandling mot hypons svårighetsgrad . . . . .	11
3.3	Andel med hypo i varje grupp . . . . .	13
3.4	Resultat från Mantel-Haenszel och logistisk regression . . . . .	15
3.5	Korrelationer . . . . .	16
3.6	Sammanfattande tabell för andelen med hypo . . . . .	16
3.7	Log rank- och Breslows test . . . . .	20
3.8	Resultat från Cox-regression . . . . .	21
3.9	Antal hypos i varje behandlingsgrupp . . . . .	23
3.10	Resultat från $\chi^2$ -test och logistisk regression . . . . .	23
3.11	Resultat från analys av antal hypos . . . . .	26
3.12	Resultat från analys av hypointensitet . . . . .	26
3.13	Resultat från Andersen och Gills metod (totaltid) . . . . .	33
3.14	Resultat från Andersen och Gills metod (gaptime) . . . . .	33
3.15	Resultat från PWP (totaltid) . . . . .	34
3.16	Resultat från PWP (gaptime) . . . . .	34
3.17	Resultat från WLW-metoden . . . . .	36
A.1	Stratumspecifika skattningar till PWP (totaltid) . . . . .	47
A.2	Stratumspecifika skattningar till PWP (gaptime) . . . . .	48
A.3	Stratumspecifika skattningar till WLW . . . . .	48

## Bilaga A

# Appendix

### A.1 Formler

$$S(t) = \exp\left(-\int_0^t h(u)du\right)$$

Om  $h_i(t) = \theta h_j(t)$  så blir  $\int_0^t h_i(u)du = \int_0^t \theta h_j(u)du = \theta \int_0^t h_j(u)du$  och alltså  $S_i(t) = \exp(-\int_0^t h_i(u)du) = \exp(-\theta \int_0^t h_j(u)du) = S_j(t)^\theta$ . Då blir slutligen  $\ln S_i(t) = \theta \ln S_j(t)$  och efter ytterligare en logaritmering

$$\ln(-\ln S_i(t)) = \ln \theta + \ln(-\ln S_j(t))$$

## A.2 Stratumspecifika skattningar

I tabellerna är b=behandling och a=antikroppsvärde. Numret är ordning av hypo, det vill säga stratum.

Variabel	$\beta$	Medel-fel	p-värde	Hazard-kvot
b1	-0.24282	0.09368	0.0095	0.784
b2	0.04100	0.12353	0.7400	1.042
b3	0.06244	0.14534	0.6675	1.064
b4	-0.13847	0.15367	0.3676	0.871
b5	0.16009	0.14453	0.2680	1.174
b6	0.30158	0.17278	0.0809	1.352
b7	0.07973	0.17585	0.6503	1.083
b8	-0.16081	0.19193	0.4021	0.851
b9	-0.20703	0.21688	0.3398	0.813
b10	0.06827	0.21729	0.7534	1.071
a1	-0.03219	0.01869	0.0850	0.968
a2	-0.02693	0.02548	0.2905	0.973
a3	-0.00744	0.02902	0.7976	0.993
a4	0.01877	0.04151	0.6511	1.019
a5	-0.09261	0.02570	0.0003	0.912
a6	0.00119	0.03848	0.9754	1.001
a7	0.03459	0.04164	0.4061	1.035
a8	-0.01605	0.04643	0.7296	0.984
a9	-0.01164	0.04665	0.8030	0.988
a10	0.03908	0.05531	0.4798	1.040

Tabell A.1: Stratumspecifika skattningar till PWP (totaltid)



Variabel	$\beta$	Medel-fel	p-värde	Hazard-kvot
b1	-0.29663	0.13251	0.0252	0.743
b2	0.00144	0.14053	0.9918	1.001
b3	0.08787	0.14659	0.5489	1.092
b4	-0.00924	0.14455	0.9490	0.991
b5	0.21017	0.15080	0.1634	1.234
b6	0.25482	0.14177	0.0723	1.290
b7	0.21388	0.16780	0.2024	1.238
b8	0.12280	0.15891	0.4397	1.131
b9	0.13943	0.18576	0.4529	1.150
b10	0.08187	0.16677	0.6235	1.085
a1	-0.09140	0.02388	0.0001	0.913
a2	-0.08441	0.02445	0.0006	0.919
a3	-0.07722	0.02595	0.0029	0.926
a4	-0.07819	0.02933	0.0077	0.925
a5	-0.11674	0.02311	<.0001	0.890
a6	-0.06295	0.02777	0.0234	0.939
a7	-0.05289	0.03253	0.1039	0.948
a8	-0.08470	0.03144	0.0071	0.919
a9	-0.08043	0.03689	0.0292	0.923
a10	-0.07587	0.03294	0.0213	0.927

Tabell A.2: Stratumspecifika skattningar till PWP (gaptime)

Variabel	$\beta$	Medel-fel	p-värde	Hazard-kvot
b1	-0.27479	0.14205	0.0531	0.760
b2	-0.24713	0.14436	0.0869	0.781
b3	-0.14824	0.14721	0.3139	0.862
b4	-0.14708	0.15153	0.3317	0.863
b5	-0.09951	0.15199	0.5127	0.905
b6	-0.09006	0.15731	0.5670	0.914
b7	-0.08901	0.15882	0.5752	0.915
b8	-0.08834	0.16576	0.5941	0.915
b9	-0.03910	0.17168	0.8198	0.962
b10	-0.04841	0.17840	0.7861	0.953
a1	-0.14818	0.02363	<.0001	0.862
a2	-0.15060	0.02539	<.0001	0.860
a3	-0.16907	0.02797	<.0001	0.844
a4	-0.17501	0.02905	<.0001	0.839
a5	-0.19312	0.03099	<.0001	0.824
a6	-0.20719	0.03241	<.0001	0.813
a7	-0.19990	0.03499	<.0001	0.819
a8	-0.21871	0.03763	<.0001	0.804
a9	-0.21884	0.04137	<.0001	0.803
a10	-0.22153	0.04217	<.0001	0.801

Tabell A.3: Stratumspecifika skattningar till WLW