

مجموعه آموزش‌های نرم‌افزار

GraphPad Prism v7

مدل‌های دوز-پاسخ خاص

Special Dose-Response Models

برگزارشده توسط

گراف پد عضو برجسته موسسه بین‌المللی تحقیقات RESEARCH GATE

SUPPORT@GRAPHPAD.IR



## یک سوال. یافتن هر EC

**مثال ۲.** این بخش را با طرح یک سوال شروع می‌کنیم. گفتیم  $EC_{50}$  میانه موثر دوز و مقداری از غلظت است که براساس آن پاسخ به نیمه خود می‌رسد.  $IC_{50}$  نیز تحت نام میانه مهار دوز، غلظتی است که پاسخ در آن به نیمه مهار خود رسیده است. عموماً برای سنجش توان یک دارو متداول است که  $EC_{50}$  را به دست بیاوریم، غلظتی که به  $50\%$  پاسخ منجر می‌شود اما در برخی تحقیقات ممکن است ما علاقمند باشیم مثلاً  $EC_{80}$  و یا  $EC_{90}$  را به دست آوریم.

سوال این است که "چرا همیشه باید به دنبال  $EC_{50}$  و یا  $IC_{50}$  در مدل دوز پاسخ باشیم؟ آیا امکان دارد بتوانیم  $EC$  یا  $IC$  هر مقداری از پاسخ را به دست بیاوریم؟" پاسخ این سوال مثبت است و تحت نام  $EC_{anything}$  یا  $IC_{anything}$  به کار برده می‌شود. از نظر ریاضی با استفاده از رابطه زیر به سادگی می‌توان از روی  $EC_{50}$  هر  $EC$  دیگری را محاسبه کرد.

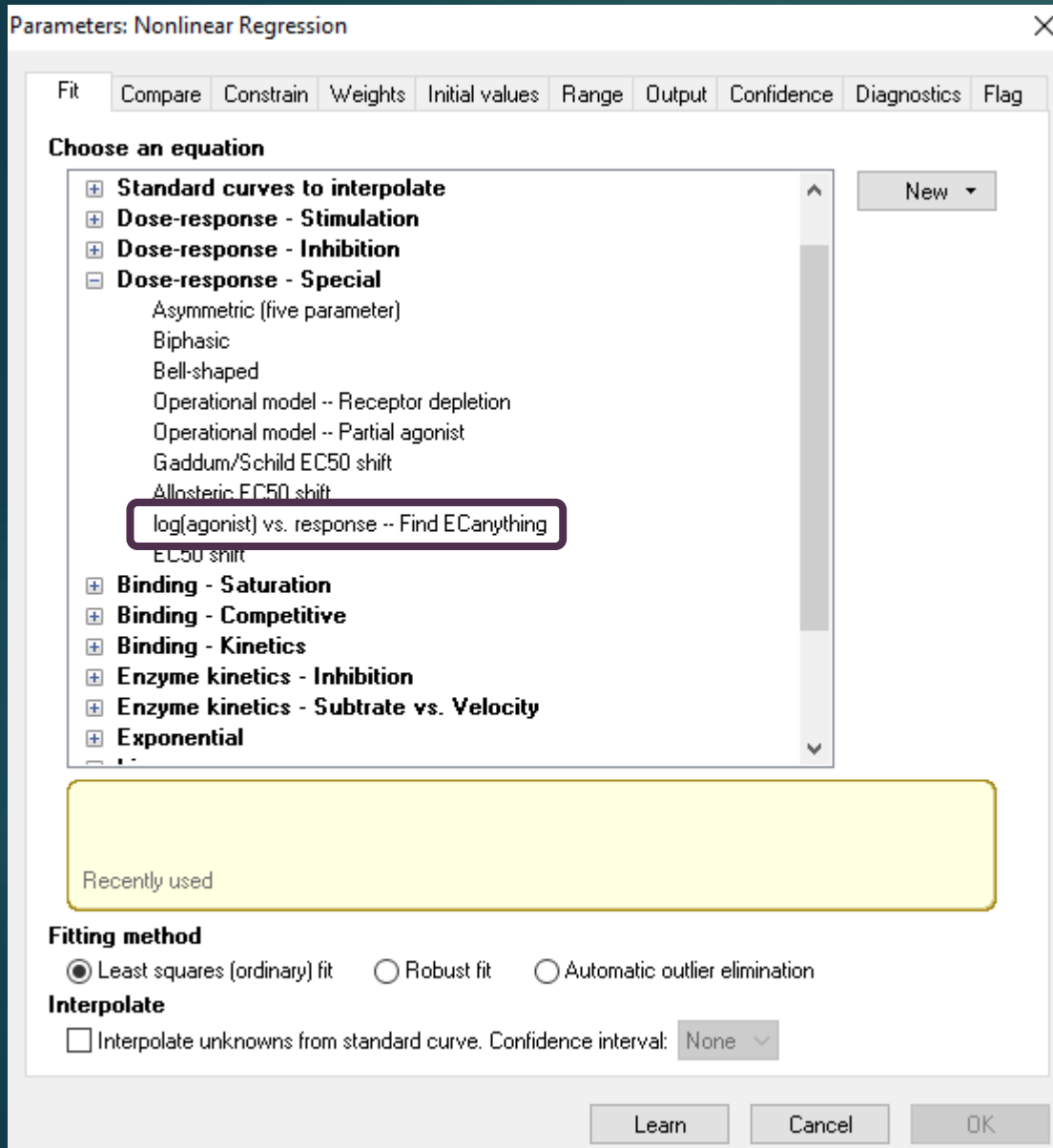
$$EC_a = \left( \frac{a}{100 - a} \right)^{1/HillSlope} \times EC_{50} \rightarrow$$

$$EC_{80} = \left( \frac{80}{100 - 80} \right)^{1/1.099} \times 49.6 = 175.1$$

اگر بخواهیم در مدل  $EC$  shift در مثال قبلی، مقدار  $EC_{80}$  گروه پاسخ کنترل را به دست آوریم، نتیجه مقابل را خواهیم داشت. مقدار  $EC_{80}$  برابر با  $175.1$  میکرو مولار می‌شود.  $EC_{50}$  برابر  $49.6$  میکرو مولار به دست آمده بود.

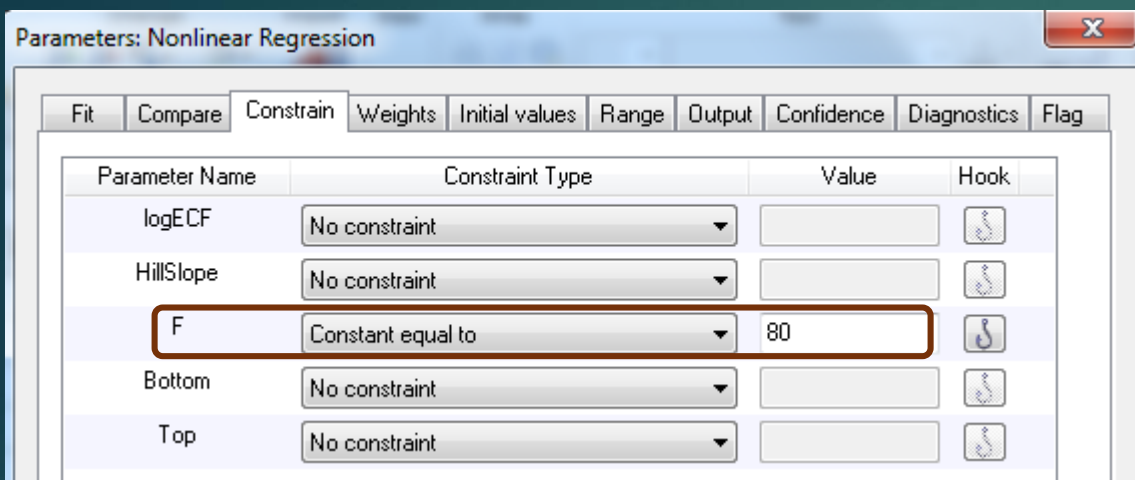
## انتخاب معادله ECanything

در نرم‌افزار گراف‌پد پریزم یک معادله خاص برای یافتن ECanything قرار داده شده است. با استفاده از این معادله می‌توانید هر مقدار EC که بخواهید، به دست بیاورید. به عنوان مثال و برای مشاهده این معادله، فایل Dose-Response ECanything را باز کنید. از طریق منوی آنالیز، وارد پنجره‌ی Nonlinear Regression شوید. در تب Fit و از بخش Dose-response – Special معادله  $\log(\text{agonist})$  vs. response – Find ECanything قابل مشاهده است. آن را انتخاب کنید.



## تنظیمات یافتن یک EC دلخواه

قبل از OK باید در نرم‌افزار انتخاب کنید که به دنبال یافتن کدام EC هستید. به عنوان مثال می‌خواهیم  $EC_{80}$  یعنی غلظتی که پاسخ ۸۰ درصد را به دست می‌دهد، بیابیم. جهت انجام این کار به تب Constrain بروید. در آنجا و در سطر F مقدار ۸۰ را در کادر Value قرار دهید.



ما در معادله ECanything - Find ECanything vs. response -  $\log(\text{agonist})$  باید، F را به داشتن مقداری بین ۰ تا ۱۰۰ محدود کنیم. به همین دلیل از تب Constrain استفاده می‌کنیم.

به این نکته توجه کنید که اگر F را برابر با ۵۰ در نظر بگیریم، معادله ما به همان معادله ۴PL تبدیل خواهد شد و ECanything همان  $EC_{50}$  خواهد بود.

## نتایج برازش مدل ECanything

نتایج در فولدر Result قابل مشاهده است. مانند همه نتایج مدل دوز پاسخ، پارامترهای Bottom، Top و HillSlope برای هر گروه پاسخ به دست آمده است. ECF و LogECF را نیز می‌توانید مشاهده کنید. از آنجا که F را برابر با ۸۰ در نظر گرفتیم، بنابراین  $EC_{80}$  و  $LogEC_{80}$  محاسبه شده است.  $EC_{80}$  به ترتیب برای گروه بدون مهارکننده و مهارکننده برابر با ۳۲.۶۳ و ۴.۵۷ میکرومولار به دست آمده است.

Nonlin fit		A	B
		No inhibitor	Inhibitor
		Y	Y
1	log(agonist) vs. response -- Find ECanything		
2	Best-fit values		
3	logECF	-6.486	-5.34
4	HillSlope	0.8967	0.8975
5	F	= 80	= 80
6	Bottom	-8.223	4.709
7	Top	370.5	348
8	ECF	3.263e-007	4.57e-006
9	Span	378.7	343.3
10	Std. Error		
11	logECF	0.1191	0.1348
12	HillSlope	0.1266	0.1399
13	Bottom	16.03	13.04
14	Top	10.71	12.12
15	Span	20.69	19.85
16	95% CI (profile likelihood)		
17	logECF	-6.722 to -6.19	-5.624 to -4.967
18	HillSlope	0.6689 to 1.202	0.6341 to 1.334
19	Bottom	-41.26 to 23.03	-24.16 to 30.05
20	Top	349.1 to 395.4	323.5 to 379.8
21	ECF	1.895e-007 to 6.463e-007	2.377e-006 to 1.08e-005

## نیکویی برازش و محدودیت‌های مدل

Nonlin fit		A	B
		No inhibitor	Inhibitor
		Y	Y
22	Goodness of Fit		
23	Degrees of Freedom	23	25
24	R square	0.9663	0.9653
25	Absolute Sum of Squares	18041	18670
26	Sy.x	28.01	27.33
27	Constraints		
28	F	F = 80	F = 80
29			
30	Number of points		
31	# of X values	30	33
32	# Y values analyzed	27	29

علاوه بر اینکه اندازه‌های انحراف معیار از خطا و فاصله اطمینان ۹۵ درصد برای هر پارامتر برآورد شده است، در بخش Goodness of Fit، آماره‌های مناسب‌ت مدل نیز آورده شده است. R square در هر دو منحنی بالا و به ترتیب برابر با ۰.۹۶۶۳ و ۰.۹۶۵۳ گزارش می‌شود.

در بخش Constraints محدودیت‌های مدل نوشته می‌شود. نتایج این بخش دقیقاً به تب Constrain اشاره می‌کنند. در این مدل محدودیت  $F=80$  در نظر گرفته شده است.

در بخش Number of points نیز تعداد داده‌های X و Y شرکت‌کننده در طراحی مدل، نوشته می‌شود.

# معادله و رسم گراف برای هر گروه پاسخ

معادله دوز پاسخ در این حالت و به ازای هر گروه پاسخ به صورت زیر نوشته می‌شود.

$$LogEC50 = LogECF - (1/HillSlope) \times \log \frac{F}{100 - F}$$

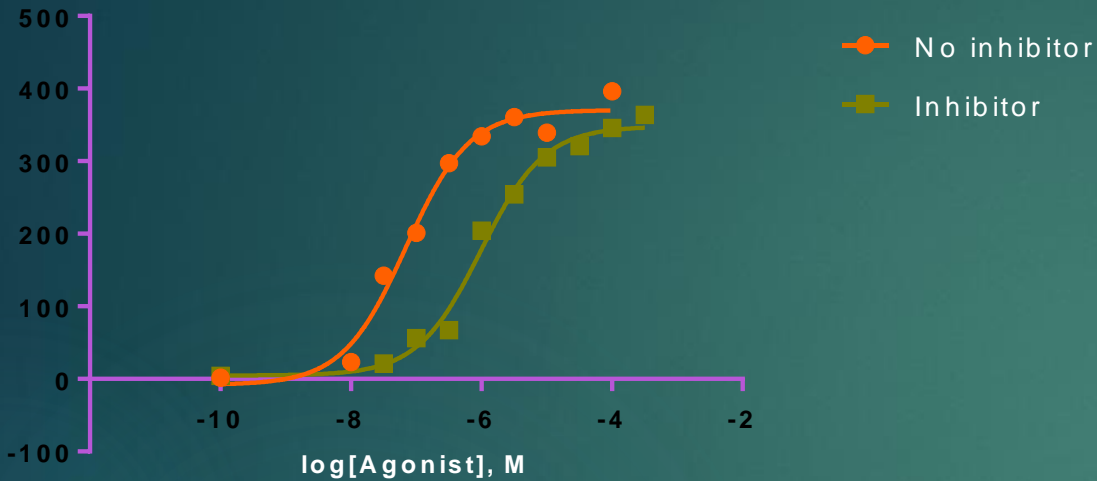
$$Y = Bottom + \frac{(Top - Bottom)}{1 + 10^{(LogEC50 - X) \times HillSlope}}$$

$$\rightarrow Y_{No\ inhibitor} = -8.223 + \frac{378.7}{1 + 10^{(-7.158 - X) \times 0.8967}}$$

$$Y_{Inhibitor} = 4.709 + \frac{343.3}{1 + 10^{(-6.011 - X) \times 0.8975}}$$

پریزم پس از برازش مدل، منحنی دوز پاسخ را برای هر دو گروه دوز پاسخ رسم خواهد کرد. منحنی در فولدر Graphs قابل مشاهده است.

log-dose vs response



هر نقطه دایره‌ای شکل بیانگر میانگین پاسخ‌ها در غلظت موردنظر می‌باشد (سه بار تکرار). محور X لگاریتم غلظت و محور Y پاسخ‌ها را نشان می‌دهد.

## یافتن ICF دلخواه در طرح مهارکنندگی

تمام مواردی که برای ECanything و یا ECF بیان کردیم، برای ICF نیز برقرار است. به معنای آن که ما می‌توانیم اندازه مهار دوز را برای هر پاسخی به دست آوریم به عبارتی هنگامی که با یک طرح مهارکنندگی روبه‌رو هستیم، (مطالعه‌ای که در آن با افزایش غلظت، پاسخ کاهش می‌یابد. شیب هیل در این مطالعات عددی منفی است.) به سادگی و با استفاده از معادله  $\log(\text{agonist}) \text{ vs. response} - \text{Find ECanything}$  می‌توانیم، ICF و سایر پارامترهای طرح را به دست آوریم.

**نکته.** در پایان این بخش بهتر است یک موضوع مهم دیگر را نیز بدانید. این که  $EC_0$  یعنی غلظتی که ۰ درصد پاسخ را در برگیرد و همچنین  $EC_{100}$  یعنی غلظتی که پاسخ ۱۰۰ درصد را بین دو پارامتر Bottom و Top به دست می‌دهد، **وجود ندارد.** این دو عدد تعریف نشده هستند.