

Alguns Aspectos do Planejamento Experimental

P. R. Curi¹

Curi P R — Some aspects of the experimental design.

Some of the special statistical problems arising in the design of clinical experiments are reviewed. Particular attention is given about efficient and effective strategies, with the utilization of patient compliance (ideal situation) and all patients (clinical situation). The random allocation of treatments in the properly executed experiments assures that the observed effect is either the result of the treatments or due to chance, and the likelihood of such an observation being due to chance, can be quantified. The randomized controlled trials are the strongest form of evidence about therapies in humans. The weakly controlled investigations may not give the some results as better controlled ones.

Key - Words: EDUCATION; RESEARCH: experimental design

Até o início deste século, o crescimento do conhecimento científico em medicina se fez de modo individual. O atendimento ao paciente ensejava elementos para a pesquisa, com ênfase para a observação e descrição qualitativa dos sintomas, sinais e características dos pacientes.

Nessa fase foram realizados estudos importantes para o progresso da medicina, como aquele que mostrou a inutilidade das chamadas "sangrias" e o que demonstrou que a falta de assepsia das mãos dos obstetras era responsável pelos elevados índices de mortalidade por infecção puerperal¹.

Com a evolução do conhecimento médico, os investigadores deslocaram o foco das suas pesquisas para o laboratório, onde existem mais facilidades e possibilidades de controle dos possíveis fatores interferentes e indesejáveis. A maior disponibilidade de recursos técnicos do laboratório promove a obtenção de medidas mais confiáveis, de dados reproduzíveis e de estocagem do material. O planejamento poderá ser seguido de ma-

neira mais rigorosa, o que proporcionará o uso de testes estatísticos mais adequados².

Os métodos experimentais permitiram a identificação precoce de algumas doenças, com consequente aumento da probabilidade de cura ou do tempo de sobrevivência. Com eles conseguiu-se a descoberta de vacinas.

Mas, ao lado da pesquisa, é necessário o desenvolvimento de métodos para a investigação clínica, responsáveis por referendar ou não os resultados obtidos em laboratório, quando aplicados aos grupos humanos.

Em uma revisão de 19 fatores com ação cancerígena, Acheson³ constatou que 13 fatores foram identificados em rotina ambulatorial, o que mostra que a prática médica pode ser, por si, o ponto de partida para a descoberta de agentes etiológicos que possibilitam o conhecimento dos mecanismos, a prevenção e a cura de muitas doenças.

Qualquer que seja a pesquisa, clínica ou em laboratório, é fundamental que o pesquisador a execute em função de um planejamento adequado, para que seus resultados sejam válidos.

Etapas do planejamento

O planejamento implica em uma visão preliminar da pesquisa como um todo, prevendo o

¹ Professor Adjunto do Serviço de Estatística e Computação da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Correspondência para Paulo Roberto Curi

Rubião Júnior

18610 — Botucatu, SP

Recebido em 30 de março de 1987

Aceito para publicação em 18 de junho de 1987

© 1987, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

conjunto das ações que serão executadas em seu desenvolvimento.

Enunciar as hipóteses de trabalho é ponto fundamental da investigação científica. A fase experimental corresponde à criação de uma situação particular ideal, estabelecendo-se um modelo que possibilite a observação dos fatos em todos os seus detalhes e que, por fim, permita comprovar ou rejeitar as hipóteses. Estas são, de início, hipóteses científicas formuladas nos termos usuais, da clínica e que, a seguir, devem ser expressas como hipóteses estatísticas. Os fatores que serão incluídos no estudo, variáveis independentes, devem ser listados. Esses fatores podem influenciar as respostas (variáveis dependentes), cujas mensurações devem ser confiáveis. Devem ser estabelecidas as regras e procedimentos que nortearão a atribuição dos tratamentos às unidades experimentais, com destaque para a necessidade de controles adequados.

A execução da pesquisa deverá ser precedida de uma cuidadosa análise de seus aspectos éticos, o que envolve não só a ética médica propriamente dita, mas, aspectos como o dimensionamento adequado das amostras e a relação de custos em confronto com os benefícios a se alcançar.

Devem ser previstas normas de ação que proporcionem o controle de tendenciosidades, contaminações e perdas de informação. O registro das informações deverá ser feito de forma que não haja excesso de fatos, mas que possibilite a identificação de valores aberrantes ("outliers") que possam ocorrer.

Para que a metodologia estatística possa ser adequadamente aplicada aos dados é condição necessária que as unidades sejam aleatoriamente designadas aos tratamentos.

No planejamento deverá constar, ainda, um item referente aos métodos estatísticos que serão empregados para a análise dos dados. Um planejamento adequado, com questões claramente formuladas, deverá resultar em uma análise estatística simples e objetiva.

O alcance dos resultados e o grau de generalização das conclusões do estudo dependem da maneira como são levados em conta os fatores que influenciam a resposta e do enunciado das condições e restrições da pesquisa, que devem estar explicitamente discutidas no planejamento.

Em um ensaio clínico que pretenda comparar procedimentos terapêuticos deve ser discutido se o grupo controle será tratado com terapia padrão e quais as vias, dosagens e seqüência de administração que serão utilizadas e se estas são compatíveis com seu uso na prática.

Existem fatores ligados ao próprio desenvolver do experimento que podem influenciar os resultados: lotes de material de diversas procedências, dias de experimentação com características distintas (frio, calor, por exemplo) e pessoas diversas que participam da execução técnica do estudo. O planejamento adequado poderá minimizar a influência destes fatores tendenciosos. Considere como exemplo um ensaio para a comparação de três técnicas cirúrgicas, realizadas em cães. Suponha que a equipe cirúrgica tenha condições de efetuar três cirurgias no período da manhã. Um procedimento eficiente seria sortear os três cães do dia para cada uma das técnicas, alternando sua ordem de execução a cada dia.

O número na apresentação de resultados

Devido à variabilidade biológica, influenciada por fatores não controláveis, podem e devem ocorrer imagens simultâneas, diferentes, e todas válidas quando uma amostra, pretensamente homogênea, é submetida a um mesmo tratamento. A quantificação (contagem ou mensuração) permite associar números aos fatos biológicos e resumir o resultado a um valor que indique a sua tendência central (média, mediana, moda, etc.).

O número na ciência experimental é um meio de objetivar os fenômenos e não um fim em si mesmo. Quando resumido em quadros e figuras representa o elemento inicial para a reflexão (estatística descritiva), descrevendo situações e quantificando a realidade biológica. A análise destes números, colocando afirmativas probabilísticas ao se testar hipóteses (inferência estatística), é a segunda etapa para a visualização do experimento e corresponde ao uso das medidas para a superposição do modelo experimental à hipótese geradora do trabalho, confirmando-a ou rejeitando-a.

Portanto, é importante que o pesquisador tenha um certo conhecimento da estatística para saber se a análise foi adequada para responder à questão formulada. A manipulação numérica de nada valerá se ela não for condizente com o planejamento experimental e, mesmo que isto se verifique, se o pesquisador não for capaz de extrair desta aritmética seu significado biológico.

Eficácia e efetividade

Os conceitos de eficácia e de efetividade são importantes para o planejamento de um ensaio clínico. A eficácia representa o grau de benefício conferido pelo tratamento, quando usado em condições ideais. Os pacientes submetidos aos tratamentos devem ser corretamente selecionados,

tendo assegurada a oferta dos medicamentos, e devem cumprir rigorosamente as determinações prescritas (pacientes aderentes)⁴.

A utilização de pacientes aderentes, isto é, pacientes que seguem todas as recomendações prescritas no tratamento, é razoável, pois, se isto não for feito, fica difícil responder adequadamente à questão básica que motivou a investigação. No entanto, restringir a análise usando só pacientes aderentes (no caso de ocorrer pacientes aderentes e não aderentes) pode levar a equívocos quando se generaliza a conclusão, pois a amostra passa a não ser representativa da população para a qual se quer generalizar⁵. Além disso, existem certos tratamentos, como os de psicopatias e de tuberculose, cuja dificuldade está ligada à não observância das recomendações prescritas, por parte dos pacientes. A baixa aderência em tratamentos como a tuberculose pode estar relacionada com efeitos colaterais (mal-estar gástrico e hepatite), o que, se não for levado em conta, devido à retirada dos não aderentes, alterará a análise, privilegiando um tratamento de maneira tendenciosa.

Por outro lado, um estudo sobre problemas coronarianos⁴ mostrou que a mortalidade de pacientes tratados com placebo foi significativamente menor ($p < 0,001$) em pacientes aderentes (15%) quando comparada com a de pacientes não aderentes (20%).

A efetividade mede o grau de benefício conferido pelo tratamento de pacientes selecionados com base clínica, independente de seu nível de aderência, o que permite verificar se o tratamento funciona em condições de rotina⁴.

Um procedimento que pode ser adotado quando do planejamento de ensaios clínicos controlados é o de selecionar, mediante critérios clínicos, os pacientes que entrarão no estudo e distribuí-los aleatoriamente nos grupos controle e experimental. Em uma primeira etapa avalia-se a eficácia do tratamento utilizando-se somente os pacientes aderentes (condição ideal). Se esta ocorrer, poderá ser verificada a efetividade usando-se o conjunto de todos os pacientes, aderentes e não aderentes (condição clínica rotineira).

Experimento piloto

O ensaio piloto poderá ser essencial em situações onde pouco se conhece sobre o assunto. A adequação do instrumental de medidas, as dificuldades de condução do plano original, a identificação de novos fatores que podem influenciar a resposta, são alguns aspectos que podem ser

avaliados no piloto. Além disso, com base na variabilidade das respostas nas quais se está interessado, é possível dimensionar de modo mais correto as amostras que serão utilizadas.

Grupo controle

Os ensaios clínicos aleatorizados e controlados são a mais correta forma de evidenciar efeitos de terapias em seres humanos. A utilização de um grupo controle adequado é enfatizada a ponto de muitos autores acharem que nada melhora a performance de uma inovação, que a falta de controle ao se testar esta inovação⁶. Isto é, nos trabalhos onde não se utilizam controles adequados os autores tendem a concluir pelo sucesso da terapia muitas vezes de maneira inadequada.

Revisões de artigos publicados em revistas médicas mostram a tendência de associação entre entusiasmo com o novo tratamento e ausência de grupo controle adequado, ou seja, nos artigos onde predomina o entusiasmo com a nova terapia falta o controle adequado.

Em artigos relacionados com a operação da anastomose porto-cava⁶, de 53 trabalhos, seis foram aceitos como "adequadamente controlados" e, destes, três mostraram entusiasmo moderado e três nenhum entusiasmo pela nova técnica. Entre os 34 artigos que manifestaram "entusiasmo acentuado" pela técnica testada, nenhum foi considerado com "controle adequado". Dos artigos com controle pouco eficiente ou inexistente, 72% foram do tipo "entusiasmo acentuado" e somente 6% não evidenciaram entusiasmo. Portanto, para o mesmo problema, as conclusões não foram concordantes e dependeram do grau de controle exercido.

Sinclair⁷ classificou artigos sobre o tratamento de síndrome de disfunção respiratória em com e sem controle adequado. Dos 19 artigos sem grupo controle, 17 (89%) concluíram pelo sucesso da terapia, enquanto que dos 18 artigos com grupo controle adequado nove (50%) o fizeram. A diferença entre as duas proporções de sucesso é nítida ($p < 0,01$).

Portanto, fica evidente que as conclusões de artigos sem grupo controle adequado não são confiáveis. Embora muitos dos ensaios, revistos e citados nas duas referências anteriores, possam não ter detectado efeitos significativos por usarem amostras insuficientes, fica difícil deixar de acreditar que o entusiasmo dos pesquisadores, nos ensaios sem controle, não tenha exercido influência na sua elevada porcentagem de sucesso.

Racionalmente, não é possível confiar na efi-

ciência de um tratamento sem ter sido realizado, um ensaio controlado aleatorizado que a comprove, a não ser em situações extremas, onde a terapia tradicional seja invariavelmente falha, seguida pela morte do paciente.

Hinshaw e col.⁸ pela observação de 100 casos, sem grupo controle, mostraram que algumas vítimas de meningite tuberculosa que, invariavelmente, morriam, sobreviveram após tratamento com estreptomicina. Assim a capacidade de pacientes com uma doença prévia fatal sobreviverem após tratamento com uma droga, desde que o sucesso seja repetido, constitui evidência suficiente da eficácia de um tratamento. Até mesmo por razões éticas não se justificaria um ensaio aleatorizado controlado em tal situação.

Em outros experimentos, onde a variável é medida ao longo do tempo em todas as unidades amostrais, além do grupo controle pode ser útil prever um momento controle. Considere um ensaio aleatorizado para comparação de dois procedimentos cirúrgicos (G1 = técnica padrão e G2 = técnica nova), onde a variável é medida em quatro momentos: antes (M1), durante (M2), imediatamente após a cirurgia (M3) e na fase de recuperação cirúrgica (M4). Além do grupo controle (técnica padrão) existe uma fase controle (M1) que se justifica, pois, devido à variabilidade biológica, a variável resposta poderia diferir de um para outro grupo antes dos indivíduos serem submetidos à cirurgia, o que dificultaria a comparação entre as duas técnicas. A análise estatística (Análise de Medidas Repetidas ou Análise de Perfil) permite verificar a interação entre grupos e momentos (analogia dos perfis), a igualdade dos perfis no conjunto dos momentos, a diferença entre momentos (para o conjunto dos grupos e em cada grupo) e a diferença entre grupos em cada momento⁹.

Este tipo de experimento é interessante para se comparar efeitos de anestésicos e/ou técnicas cirúrgicas.

Amostragem e aleatorização

A amostra corresponde a uma parcela do universo, aleatoriamente designada e que deve se comportar como um conjunto o mais homogêneo possível, embora com variações previstas em torno de um valor central.

A aleatorização tem por finalidade tornar válida a aplicação dos métodos estatísticos e prevenir distorções imprevisíveis que fatores não controlados podem provocar nas variáveis respostas.

O tipo mais usual de amostra em medicina é a inteiramente aleatorizada, que se justifica quando o conjunto disponível de unidades é homogêneo. Em um esquema inteiramente aleatorizado, as unidades experimentais são escolhidas completamente ao acaso (por exemplo, usando-se uma tabela de números aleatórios). Assim, cada unidade tem a mesma probabilidade de receber qualquer um dos tratamentos, não sendo imposta restrição alguma no critério de aleatorização. Este esquema será tanto mais eficiente quanto maior for a homogeneidade entre as unidades, com relação aos fatores que possam influenciar a resposta.

Quando as unidades experimentais não são homogêneas, a amostra necessária para se ter uma boa precisão com alta confiabilidade poderá resultar muito grande. Neste caso, deve ser procurado outro plano amostral que proporcione uma redução do erro experimental, o que poderá ser conseguido com a utilização de blocos de unidades homogêneas. Em muitas situações práticas, o pesquisador dispõe de informações preliminares, que induzem ao agrupamento das unidades em subconjuntos, dentro dos quais a homogeneidade é maior (no caso de dois tratamentos, as unidades são pareadas). Cada um desses subconjuntos deve ter um número de unidades igual ao número de tratamentos, sendo o tratamento sorteado para cada unidade que pertença ao subconjunto ou bloco. Cada bloco conterá todos os tratamentos e, desta forma, os fatores interferentes ficarão igualmente distribuídos pelos tratamentos, com conseqüente diminuição do erro experimental, pois uma parte deste estará contida no efeito de bloco.

Muitos autores recomendam a não leitura de artigos onde a aleatorização não tenha sido a norma de designação dos pacientes, no caso de se desejar comparar tratamentos. Situações históricas enganosas ocorreram por se aceitar resultados de ensaios não casualizados. O uso de clofibrato foi suprimido como prevenção primária de processos cardíacos isquêmicos, em pacientes com elevado nível de colesterol no soro, depois que Oliver e col.¹⁰ demonstraram que, apesar de baixar o nível de colesterol e de diminuir o número de infartos do miocárdio, a droga levava a um aumento da mortalidade.

Milhares de aparelhos de resfriamento gástrico foram comercializados e usados no tratamento de pacientes com úlcera péptica antes que um ensaio casualizado mostrasse a ineficiência deste tratamento, conforme citação de Sackett¹¹.

Não obstante estas considerações, muitos problemas médicos atuais não podem ser enfocados por métodos que permitam quantificar as incertezas envolvidas nas conclusões. Mas, isto não deve desestimular a sua pesquisa, embora ao atacá-los deva ficar claro ao pesquisador as limitações dos métodos empregados. Em uma revisão de 72 artigos com afirmações probabilísticas, seis referiam a aleatorização e em 21 esta foi, obviamente, não efetuada^{1 2}.

Curi P R — Alguns aspectos do planejamento experimental.

Este artigo apresenta, de maneira ampla, alguns aspectos do planejamento experimental, enumerando suas principais etapas.

A comparação entre tratamentos é discutida quanto à eficácia (condição clínica ideal) quando são utilizados na análise somente pacientes aderentes, isto é, pacientes que seguem rigorosamente as recomendações e quanto à efetividade (condição clínica de rotina) quando são utilizados pacientes aderentes e não aderentes. A aleatorização é destacada como condição básica para a aplicação dos métodos estatísticos e para prevenir tendenciosidades. A necessidade de controles adequados é fundamental quando se objetiva verificar efeito de tratamentos.

Unitermos: EDUCAÇÃO: planejamento; PESQUISA

Outros aspectos do planejamento

Além dos já enumerados, merecem destaque especial outros aspectos do planejamento que, pela sua maior complexidade, serão considerados à parte: dimensionamento da amostra, significâncias estatística e clínica e tipos de erros ao se fazer uma inferência estatística.

Curi P R — Algunos aspectos del planeamiento experimental.

De amplia forma, este artículo presenta algunos aspectos del planeamiento experimental, enumerando sus etapas principales.

La comparación entre los tratamientos es discutida, cuanto a la eficacia (condición clínica ideal), cuando en el análisis son utilizados solamente pacientes adherentes, o sea, pacientes que siguen rigorosamente las recomendaciones y cuanto a la efectividad (condición clínica de rutina) cuando son utilizados pacientes adherentes y no adherentes. Se destaca la aleatoriedad como condición básica para la aplicación de los métodos estadísticos y para prevenir tendenciosidades. La necesidad de un control adecuado es fundamental cuando se tiene como objetivo verificar el efecto de los tratamientos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Souza C M — Epidemiologia em Clínica Médica. Educ Méd Salud 1983; 17(1): 7-18.
2. Feinstein A R — Scientific methodology in clinical medicine 1964; 61: 564-8.
3. Acheson E D — Clinical practice and epidemiology: two words or one. Brit Med J 1979; 1: 723-6.
4. Castelo A F, Marcopito L F — Critérios metodológicos para a escolha de procedimentos terapêuticos. Rev Ass Med Brasil 1984; 30(5-6): 115-20.
5. Feinstein A R — Clinical biostatistics XLVIII: efficacy of different research structures in preventing bias in the analysis of causation. Clin Pharmac Ther, 1979; 26: 129-41.
6. Gilbert J P, McPeck B, Mosteller F — Statistics and ethics in surgery and anesthesia. Science 1977; 198: 684-9.
7. Sinclair J C — Prevention and treatment of the respiratory distress syndrome. Pediatr Clin North Am 1966; 13: 711-30.
8. Hinshaw H C, Feldman W H, Pfuente K H — Treatment of tuberculosis with streptomycin: summary of observations on 100 cases. JAMA 1946; 132: 778-82.
9. Curi P R — Análise de medidas repetidas em experimentos biológicos. Rev Bras Estat 1980; 41(161): 137-50.
10. Oliver M F, Heady J A, Morris J N, Cooper J — A cooperative trial in the primary prevention of ischaemic heart disease using clofibrate. Report from the committee of principal investigation. Br Heart J 1978; 40: 1069-1118.
11. Sackett D L — How to read clinical journals to distinguish useful from useless or even harmful therapy. Can Med Ass J 1981; 124: 1156-61.
12. Schoolman H M, Becktel J M, Best W R, Johnson A F — Statistics in medical research: principles versus practices. J Lab & Clin Med 1968; 71(3): 357-67.

ISOFLURANO AUMENTA A TOLERÂNCIA À ISQUEMIA MIOCÁRDICA INDUZIDA POR ALTAS FREQUÊNCIAS DE MARCAPASSO

Foram estudados quatorze pacientes com função ventricular esquerda normal, encaminhados a cirurgia de revascularização do miocárdio, quanto à influência do isoflurano (0,5% em ar de final de expiração) associado ao óxido nitroso (50%) sobre o limiar de isquemia miocárdica subsequente à elevação da frequência cardíaca através de marcapasso atrial. A frequência média do marcapasso com a qual apareceram os primeiros sinais de isquemia miocárdica (depressão do segmento ST no ECG, aumento da Pressão de Oclusão do Capilar Pulmonar) foi significativamente mais elevada durante a anestesia com isoflurano do que nos pacientes acordados. À frequência de 129 ± 5 bpm, que induziu angina pectoris nos pacientes acordados, a elevação da POCP foi significativamente menor durante anestesia com isoflurano do que no controle (pacientes acordados). As alterações isquêmicas do segmento ST apareceram em 13 dos 14 pacientes durante a elevação inicial da frequência do marcapasso (controle) e em apenas nove durante a elevação da frequência do marcapasso na vigência do isoflurano. Os autores concluem que o isoflurano em baixas concentrações associado ao óxido nitroso, aumenta a tolerância à isquemia do miocárdio induzida por elevação da frequência do marcapasso, em pacientes com doença coronariana.

Tarnow J, Marksches-Hornung A, Schulte-Sasse U – Isoflurane improves the tolerance to pacing-induced myocardial ischemia. Anesthesiology 1986; 64: 147-156.

COMENTÁRIO. *Este trabalho apresenta evidência clínica de preservação do balanço entre MVO_2 e suprimento de oxigênio para o miocárdio em situação de estresse miocárdico, durante anestesia pelo isoflurano. Isto vem de encontro a propriedades vasodilatadoras coronarianas já relatadas para este anestésico. Parece, entretanto, que este efeito "protetor" está condicionado à manutenção de valores adequados de pressão arterial e débito cardíaco, sem os quais a perfusão coronariana fica prejudicada (Nocite J R).*