

STICHTING
MATHEMATISCH CENTRUM

2e BOERHAAVESTRAAT 49

AMSTERDAM

STATISTISCHE AFDELING

LEIDING: PROF. DR. D. VAN DANTZIG

ADVISEUR VOOR STATISTISCHE CONSULTATIE: PROF. DR. J. HEMELRIJK

Rapport S 241

Onderzoek naar de invloed van vitamine K
bij pasgeboren kinderen (I)

door

A.R.Bloemena

oktober 1958

The Mathematical Centre at Amsterdam, founded the 11th of February 1946, is a non-profit institution aiming at the promotion of pure mathematics and its applications, and is sponsored by the Netherlands Government through the Netherlands Organization for Pure Research (Z.W.O.) and the Central National Council for Applied Scientific Research in the Netherlands (T.N.O.), by the Municipality of Amsterdam and by several industries.

1. Inleiding

In de regel hebben pasgeboren kinderen een verhoogde prothrombinetijd. De verhoging kan zo groot zijn, dat er gevaar bestaat voor ernstige bloedingen. Men tracht dan door toedienen van vitamine K de prothrombinetijd gedurende de eerste dagen van de geboorte sneller te laten dalen, dan dit het geval zou zijn zonder toedienen van vitamine K. Behalve dit gunstige effect, manifesteert zich ook vooral bij hogere doses een bijeffect; er treedt een verhoogde afbraak van bloedlichaampjes op, waardoor het bilirubine gehalte van het bloed stijgt. Na de geboorte stijgt dit gehalte toch al, zodat een nog sterkere stijging als zeer ongewenst moet worden beschouwd. Het doel van het onderzoek is zo mogelijk een dosis te vinden, waarbij het gunstige effect wel, maar het ongunstige effect nog niet merkbaar is. In dit rapport worden de resultaten van het eerste deel van het onderzoek uiteengezet.

De probleemstelling is zodanig, dat men alleen pasgeboren kinderen met een pathologische waarde van de prothrombinetijd in het onderzoek zou willen betrekken. Practisch is dit niet te verwezelijken, gezien het geringe aantal van deze kinderen dat per jaar in het B.G. verpleegd wordt. Daarom zullen wij alleen nagaan of vitamine K een gunstige invloed heeft op de daling van de prothrombinetijd, ongeacht de beginwaarde.

De waarnemingen zijn verricht bij 45 pasgeborenen, die verpleegd werden in de couveuse-afdeling van het Binnen Gasthuis tussen 1-1-1958 en 26-4-1958. Dit betreft dus kinderen, die te vroeg geboren zijn, en à terme geboren kinderen met een geboortegewicht tussen 1500 en 2500 gram. Uiteraard hebben de conclusies van het onderzoek alleen betrekking op hiermee vergelijkbare groepen pasgeborenen.

Het eerste kind, geboren na 1-1-1958, kreeg 1 mg vitamine K₁, het tweede kind, 1 mg vitamine K₃, het derde kreeg geen vitamine K, maar wel een placebo, het vierde kind weer vitamine K₁, enz.

De waarnemingen, die bij de statistische verwerking gebruikt konden worden, bestonden niet uit die van de 45 kinderen. Door ziekte en sterfte vielen, nadat de waarnemingen reeds waren verricht, nog een aantal uit, terwijl door organisatorische moeilijkheden hier en daar een waarneming ontbrak. Wel is getracht

zoveel mogelijk informatie uit de beschikbare waarnemingen te verkrijgen, hetgeen met zich meebracht, dat de statistische analyse niet altijd op eenzelfde aantal waarnemingen kon worden gebaseerd. De onderstelling, dat het al of niet ontbreken van een waarneming niet samenhangt met de grootte ervan, moet daarbij wel worden gemaakt. Het is bekend, dat in dit onderzoek deze onderstelling soms niet vervuld was. B.v. ontbraken soms waarnemingen van de prothrombinetijd, omdat na het afnemen van het bloed dit zeer snel stolde. In dat geval zou de prothrombinetijd wel zeer laag geweest zijn.

Waarnemingen zijn verricht van de prothrombinetijd, de controle-prothrombinetijd en het bilirubinegehalte, dit alles op de eerste, derde en zesde dag na de geboorte. Voorts was van elk kind vermeld: dag en uur van geboorte, geslacht, geboortegewicht, lengte, à terme of niet, bloedgroep, enz. De controle-waarnemingen van de prothrombinetijd zullen in een latere paragraaf besproken worden.

2. De aseletering

Zoals in de inleiding is beschreven, zijn de kinderen verdeeld over de drie wijzen van behandeling. Op die manier is getracht er voor te zorgen, dat de drie groepen niet systematisch verschillen wat de factoren betreft, die wel van invloed zijn op de daling van de prothrombinetijd en van het bilirubinegehalte, maar waarmee niet expliciet rekening kan worden gehouden in een onderzoek van deze omvang. Men zegt dan wel dat het materiaal op aselecte wijze in drie groepen is verdeeld.

Achteraf kan men dikwijls constateren of op deze wijze een voldoende aseletering is bereikt. Zo is dit in het beschouwde geval gedaan voor de volgende factoren:

- 1) geboortegewicht,
- 2) prothrombinetijd op eerste dag na geboorte,
- 3) bilirubinegehalte op eerste dag na geboorte.

De waarnemingen zijn grafisch uitgezet in de figuren 1, 2 en 3. In Tabel I zijn vermeld de gemiddelden van de waarnemingen. Uit deze tabel blijkt dat bijvoorbeeld het gemiddelde geboortegewicht voor de drie groepen van kinderen verschillend was. De vraag rijst

Tabel I ¹⁾

Gemiddelden van de waarnemingen van geboortegewicht, prothrombine-tijd en bilirubinegehalte op de eerste dag na de geboorte

	geboorte- gewicht	prothrom- binetijd eerste dag	bilirubine- gehalte eerste dag
geen vitamine K	2090,7	20,4	2,9
vitamine K ₁	2138,0	23,2	3,0
vitamine K ₃	2291,5	18,9	4,2

nu of dit verschil uitsluitend veroorzaakt is door toevallige omstandigheden, of dat ook moet worden aangenomen, dat systematische invloeden aanwezig geweest zijn. Men kan een antwoord op deze vraag krijgen door een statistische toets toe te passen. Men stelt dan een zgn. nulhypothese, inhoudende dat er geen verschil is tussen de werkelijke geboortegewichten, en berekent vervolgens de kans, (de "overschrijdingskans") door toevallige omstandigheden een evengrote of grotere afwijking van de nulhypothese te vinden, als uit de waarnemingen blijkt. Is deze kans $\leq 0,05$, dan zegt men vaak dat het resultaat significant is. Als $k = 0,05$ zal een dergelijke uitspraak nu in ongeveer 1 op de 20 gevallen onjuist zijn: men concludeert tot het bestaan van een verschil, terwijl er in werkelijkheid geen verschil bestaat. Wij prefereren een andere omschrijving, nl. bijv. voor $k = 0,05$, dat er een aanwijzing is, dat er een systematisch verschil bestaat.

1) Wij geven in deze en analoge tabellen geen standaardafwijkingen op, daar de waarnemingen zeer beslist niet normaal verdeeld zijn. De interpretatie van een gemiddelde van een niet normaal verdeelde grootheid aan de hand van een schatting van de standaardafwijking is niet aan te geven door eenvoudige regels. Een gemiddelde zonder standaardafwijking betekent evenwel weinig of niets. Er dient dus een zeer grote voorzichtigheid in acht genomen te worden bij het interpreteren van gemiddelden.

In dit rapport zal niet worden ingegaan op details van toetsen. Alleen zal worden aangegeven, welke toets is toegepast en welke overschrijdingskansen daarbij is gevonden.

De toets, die is toegepast om na te gaan of de aseletering inderdaad tot het gewenste resultaat heeft geleid, is de k-steekproeventoets van KRUSKAL en WALLIS (zie het als bijlage toegevoegde memorandum S 73 (M 30a)). De overschrijdingskansen zijn in Tabel II vermeld. Uit de waarden van k in deze tabel blijkt,

Tabel II

Overschrijdingskansen, gevonden bij toepassing van de toets van Kruskal en Wallis

	k
geboortegewicht	0,08
prothrombinetijd 1ste dag	0,37
bilirubinetijd 1ste dag	0,18

dat er geen redenen zijn, aan te nemen dat de gebruikte methode van indelen in groepen tot systematische onjuistheden heeft geleid.

3. De daling van de prothrombinetijd

Het gemiddelde van de waarnemingen van de prothrombinetijd van het i-de kind op de j-de dag na de geboorte, zullen wij aangeven met x_{ij} .

Wij hebben eerst nagegaan of de relatieve daling, $\underline{d}$, van de prothrombinetijd gecorreleerd is met de beginwaarde $\underline{x}$. Hiertoe hebben wij voor elke i x_{i1} vergeleken met

$$d_i = \frac{x_{i1} - x_{i6}}{x_{i1}}$$

Als toets voor de nulhypothese, dat er geen correlatie bestaat tussen $\underline{d}$ en $\underline{x}$, is toegepast de toets van KENDALL (zie memorandum S 190 (M 13), dat als bijlage is toegevoegd). Het resultaat is $k \ll 10^{-3}$. In dit geval concluderen wij dat met aan zekerheid

grenzende waarschijnlijkheid er een verband bestaat tussen de relatieve daling van de prothrombinetijd en de beginwaarde.

Wil men dus de daling vergelijken voor kinderen zonder vitamine K en die met vitamine K₁, resp. K₃, dan is het beter, rekening te houden met de beginwaarde van de prothrombinetijd. Men zou, in verband met de aselechte wijze van indeling in drie groepen, dit ook kunnen nalaten, maar verdere toetsen zullen aan onderscheidingsvermogen winnen, indien men er wel rekening mee houdt.

4. Vergelijking van de vermindering van de prothrombinetijd

Ten einde rekening te houden met de correlatie tussen beginwaarde van de prothrombinetijd en de relatieve daling, hebben wij het materiaal gesplitst in drie groepen, nl.:

groep A : prothrombinetijd 1ste dag $< 17,00$,

groep B : prothrombinetijd 1ste dag $\geq 17,00$
 $< 19,50$,

groep C : prothrombinetijd 1ste dag $\geq 19,50$.

Men kan verwachten dat de correlatie tussen beginwaarde van de prothrombinetijd en de daling geringer zal zijn binnen ieder van deze groepen. De vergelijking van de daling van de prothrombinetijden van kinderen met en zonder vitamine K wordt nu niet meer in zo sterke mate beïnvloed door verschillen tussen de groepen kinderen met en zonder vitamine K, wat de beginwaarde van de prothrombinetijd betreft. In Tabel IV en V zijn gemiddelden opgenomen van de daling van de prothrombinetijden. De aantallen waarnemingen waarop deze gemiddelden zijn gebaseerd zijn tussen haakjes vermeld. De waarnemingen zelf zijn grafisch uitgezet in figuur 4 tot en met 9.

Tabel IV ¹⁾

gemiddelde daling van de prothrombinetijd tussen 1ste en 3de dag
na de geboorte

behandeling groep	geen vit. K	vitamine K ₁	vitamine K ₃
A	0,5 (3)	0,6 (2)	1,0 (5)
B	-1,5 (5)	2,8 (3)	3,0 (4)
C	6,1 (4)	11,9 (7)	9,2 (3)

1) zie voetnoot pag. 3

Tabel V

gemiddelde daling van de prothrombinetijd tussen 1ste en 6de dag na de geboorte

behandeling groep	geen vit. K	vitamine K ₁	vitamine K ₃
A	1,4 (3)	0,7 (3)	2,1 (5)
B	-1,2 (4)	3,3 (4)	3,4 (4)
C	8,6 (4)	15,1 (5)	10,7 (3)

Tabel VI

overschrijdingskansen, gevonden bij toepassing van de toets van WILCOXON

	geen vitamine K - vitamine K ₁	geen vitamine K - vitamine K ₃	vitamine K ₁ vitamine K ₃
daling tussen 1ste en 3de dag	0,07	0,17	0,91
daling tussen 1ste en 6de dag	0,32	0,03	0,60

Men kan nu bijvoorbeeld voor ieder der groepen A, B, C de daling van de prothrombinetijden van de kinderen, die geen vitamine K gehad hebben, met die van de kinderen, die vitamine K₁ toegediend kregen, vergelijken. Men kan in dit geval de nulhypothese toetsen: er is geen verschil in daling van de prothrombinetijd tussen beide groepen. De toets, die hiervoor gebruikt is, is de toets van WILCOXON (zie het bijgevoegde memorandum S 47, M 7). Deze toets heeft de juist in dit geval nuttige eigenschap, alleen gebruik te maken van de volgorde van de waarnemingen, wat hun grootte betreft, en niet van de waarnemingen zelf. De invloed van de sterk afwijkende "daling" van de prothrombinetijd van patiënt nr 80, die tot uitdrukking komt in de negatieve tekens in tabel IV en V, wordt hierdoor aanzienlijk verminderd. De toetsen van de groepen A, B en C kunnen worden gecombineerd, zodat als resultaat één overschrijdingskans wordt verkregen. Deze zijn vermeld in

tabel VI.

Wij hebben ondersteld, dat gegeven is, dat vitamine K_1 , resp. K_3 niet de daling van de prothrombinetijd verminderen. Dit brengt mee dat de toetsen voor de nulhypothese: er is geen verschil in daling van de prothrombinetijd tussen kinderen zonder vitamine K en die met vitamine K_1 (resp. K_3), éénzijdig zijn uitgevoerd. Vergelijken van vitamine K_1 en vitamine K_3 is tweezijdig geschiedt, daar a priori niet gezegd kon worden, dat de één beslist niet slechter kon zijn dan de andere.

Uit tabel VI blijkt, dat er slechts zwakke aanwijzingen zijn, dat vitamine K_1 en K_3 een gunstige invloed hebben op de daling van de prothrombinetijd tussen de eerste en de zesde dag na de geboorte. Er is in het geheel geen aanwijzing voor een verschil in uitwerking tussen K_1 en K_3 .

5. De daling van de prothrombinetijd, rekening houdend met de controle-waarnemingen

Het bepalen van de prothrombinetijd geschiedt o.a. met behulp van een organische vloeistof, die elke dag opnieuw moet worden klaar gemaakt. De eigenschappen van deze vloeistof zijn van dag tot dag niet constant, hetgeen een bron van variatie is, die hinderlijk kan zijn bij het beoordelen van waarnemingen van prothrombinetijden op verschillende dagen. Men tracht een correctie toe te passen, door elke dag bloed af te nemen van een willekeurig gekozen "normaal" persoon en hiervan de prothrombinetijd te bepalen. De waarnemingen van prothrombinetijden van patiënten worden dan vergeleken met deze controle-waarnemingen.

De in de paragrafen 2 en 3 beschreven bewerkingen zijn uiteraard ook uit te voeren aan de hand van de verschillen tussen de waarnemingen van de prothrombinetijd van de pasgeborenen en dit gemiddelde van de controle-waarnemingen, die op dezelfde dag zijn verricht. Wij zullen deze verschillen aangeven als de verschil-waarnemingen. Uit de waarnemingen blijkt zeer duidelijk, dat in de meeste gevallen de prothrombine-waarnemingen op de zesde dag vrijwel gelijk zijn aan de controle-waarnemingen. Dit wil dus zeggen dat de verschilwaarnemingen op de zesde dag practisch gesproken gelijk aan nul zijn. De daling tussen eerste en zesde dag van de verschilwaarnemingen zal daarom vrijwel gelijk zijn

aan de verschilwaarnemingen op de eerste dag.

Uit de redenering volgt:

dat het vergelijken van de daling van de verschilwaarde van de prothrombinetijd van kinderen met en die zonder vitamine K weinig zinvol is. De toetsen die hierbij toegepast zouden moeten worden zijn nl. veel gevoeliger dan in de vorige paragraaf ten aanzien van verschillen tussen de drie behandelingsgroepen, wat hun verschilwaarde van de prothrombinetijd op de eerste dag betreft.

De gegevens ontbreken om een betere methode uit te kunnen werken, waarbij men de dalingen van de prothrombinetijd kan vergelijken voor de verschillende groepen, rekening houdend met de controlewaarnemingen.

Men kan echter de controle-waarnemingen op een andere wijze gebruiken. Zouden nl. de pasgeboren kinderen, die vitamine K toegediend kregen sneller dalen tot het normale niveau van de prothrombinetijd, dan kinderen, die geen vitamine K kregen, dan kan men eveneens spreken van een gunstige invloed van vitamine K. Wat nu "het normale niveau" is, is vrij arbitrair. Wij zullen een patiënt normaal noemen zodra dat gemiddelde van de waarnemingen van zijn prothrombinetijd $\leq$ de gemiddelde controlewaarneming op die dag $+ 1\frac{1}{2}$ is.

Volgens deze definitie is dus patiënt nr 1:

	ptt	controle
1ste dag	$35\frac{1}{2} - 40$	12-12
3de dag	16 - 17	14-14
6de dag	13 - 13	$13 - 13\frac{1}{2}$,

op de zesde dag weer normaal. Patiënt nr 45:

	ptt	controle
1ste dag	$30\frac{1}{2} - 29\frac{1}{2}$	$14 - 13\frac{1}{2}$
3de dag	$22\frac{1}{2} - 23\frac{1}{2}$	13-13
6de dag	20 - $20\frac{1}{2}$	14-14 ,

was op de zesde dag nog niet normaal. Door alle patiënten op deze wijze te beschouwen, komen wij tot tabel VII. Daarbij zijn patiënten, die op de eerste dag al normaal waren, weggelaten.

Tabel VII

snelheid waarmee prothrombinetijd daalde tot normaal niveau

behan- deling	aantal patiënten, dat voor of op 3de dag normale waarde van ptt bereikte	aantal patiënten, dat eerst na de derde dag normale waarde van ptt bereikte
geen vitamine	1	11
vitamine K ₁	7	5
vitamine K ₃	5	6

De waarnemingen van patiënten 4, 6, 15, 27, 49, 55, 56, 57, 58, en 64 werden om verschillende redenen niet gebruikt.

Indien toediening van vitamine K geen invloed heeft op de snelheid, waarmee de begin-prothrombinetijd afneemt, dan zou men verwachten, dat behoudens kansfluctuaties, de kans dat bij een patiënt de prothrombinetijd vóór of op de derde dag normaal is, even groot zal zijn bij ieder der drie behandelingen. Met een toets, de zgn. methode van de 2x2-tabel (zie memorandum, S 53 (M 23)), kan voor elk tweetal behandelingen worden onderzocht in hoeverre de verschillen die in tabel VII optreden, aan kansfluctuaties kunnen worden toegeschreven.

De resultaten zijn:

geen vitamine - vitamine K₁ $k = 0,02$

geen vitamine - vitamine K₃ $k = 0,06$

vitamine K₁ - vitamine K₃ $k > 0,50$

Uit deze overschrijdingskansen kan men concluderen, dat er een aanwijzing is, dat vitamine K₁ invloed heeft. Wat vitamine K₃ betreft is de overschrijdingskans in dit geval te groot om een dergelijke uitspraak te rechtvaardigen. Zoals overal in dit onderzoek vinden wij geen enkele reden te spreken van een systematisch verschil tussen de uitwerking van vitamine K₁ en K₃.

6. De bilirubine-waarnemingen

In de inleiding is de vraag reeds besproken of toediening van 1 mg vitamine K₁, dan wel vitamine K₃ de stijging van het bili-

rubine-gehalte na de geboorte versterkt. Deze probleemstelling is éénzijdig; de toetsen zullen dan ook eenzijdig worden uitgevoerd.

De waarnemingen en de hieruit berekende toenemingen van het bilirubinegehalte zijn uitgezet in figuur 14, terwijl tabel VIII de gemiddelden geeft. Achter elk gemiddelde is hierbij opgenomen uit hoeveel waarnemingen dit gemiddelde berekend is. Hoewel voor elk pasgeboren kind uiteraard geldt dat de toename van eerste tot derde dag vermeerderd met de toename van derde tot zesde dag gelijk is aan de toename van de eerste tot de zesde dag, geldt dit niet voor de gemiddelde waarden opgegeven in tabel VIII. Deze gemiddelden zijn niet berekend uit de waarnemingen van een exact dezelfde groep kinderen, hetgeen in verband staat met het af en toe ontbreken van een enkele waarneming.

Tabel VIII ¹⁾

Gemiddelde toename van het bilirubinegehalte

behandeling	geen vitamine K	vitamine K ₁	vitamine K ₃
gemiddelde toename tussen 1ste en 3de dag	4,53 (14)	5,93 (11)	6,11 (10)
gemiddelde toename tussen 3de en 6de dag	0,85 (12)	2,88 (12)	0,69 (10)
gemiddelde toename tussen 1ste en 6de dag	5,38 (12)	9,69 (10)	6,36 (11)

Toetsing door middel van de toets van WILCOXON van de nulhypothese, dat er geen verschil is tussen twee wijzen van behandeling geeft de resultaten vermeld in tabel IX.

1) Zie voetnoot op pag. 3

Tabel IX

Overschrijdingskansen, gevonden bij toetsing van de nulhypothese, dat vitamine K geen invloed heeft op het bilirubine-gehalte

toename n	1ste-3de dag	3de-6de dag	1ste-6de dag
geen vitamine K vitamine K ₁	0,13	0,05	0,05
geen vitamine K vitamine K ₃	0,10	0,59	0,43
vitamine K ₁ - vitamine K ₃	0,84	0,15	0,18

Uit deze tabel blijkt, dat er een zwakke aanwijzing is, dat gesproken mag worden van het bestaan van een invloed van vitamine K₁. Er is geen invloed te constateren van vitamine K₃, en ook geen verschil tussen vitamine K₁ en K₃.