

MAE0327 - Planejamento e Pesquisa II

EXPERIMENTOS/ESTUDOS NÃO-BALANCEADOS COM
FATORES FIXOS - PARTE 1

7 de agosto de 2016

PLANEJAMENTO E PESQUISA I

Estudos balanceados: cada casela (tratamento: combinação dos níveis dos fatores) tinha o mesmo número de observações.

Situações práticas: número de observações por casela não é o mesmo.

Motivos

Estudos observacionais: o pesquisador tem pouco ou nenhum controle sobre o número de observações por casela.

Estudos experimentais: **a)** Problemas ocorridos durante a realização do experimento causam a perda de observações; **b)** Experimentos não-balanceados são planejados deliberadamente.

EXPERIMENTOS/ESTUDOS NÃO-BALANCEADOS COM 1 FATOR

Número de níveis do fator (grupos): r

Número de unidades experimentais em cada grupo: n_i

Número total de unidades experimentais: $n = \sum_{i=1}^r n_i$

MODELO DE MÉDIAS: $y_{ij} = \mu_i + e_{ij}$,

sendo

y_{ij} : valor da variável resposta da j -ésima unidade experimental no i -ésimo nível do fator (grupo);

μ_i : média populacional da variável resposta no i -ésimo grupo (não aleatório);

e_{ij} : erro aleatório;

Suposição: $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$, independentes;

Assim, $y_{ij} \sim N(\mu_i, \sigma^2)$, independentes, $i = 1, \dots, r$; $j = 1, \dots, n_i$.

PARAMETRIZAÇÕES DO MODELO

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij},$$

sendo

y_{ij} : valor da variável resposta da j -ésima unidade experimental no i -ésimo grupo;

μ e α_i : não aleatórios;

$\mu_i = \mu + \alpha_i$: média populacional relacionada ao i -ésimo grupo;

e_{ij} : erro aleatório;

Suposição: $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$, independentes;

Assim, $y_{ij} \sim N(\mu + \alpha_i, \sigma^2)$, independentes, $i = 1, \dots, r$; $j = 1, \dots, n_i$.

PARAMETRIZAÇÕES DO MODELO

Problema: Temos r médias e $r + 1$ parâmetros (falta de identificabilidade).

Para tornar o modelo identificável podemos:

- Estabelecer a restrição $\sum_{i=1}^r \alpha_i = 0$. Neste caso,
 - $\mu = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \mu_i$: média das médias em cada grupo;
 - α_i : incremento (positivo ou negativo) da média do grupo i com relação à média μ , isto é, $\alpha_i = \mu_i - \mu$.
- Igualar um único α_i à zero, por exemplo α_1 (casela de referência). Neste caso,
 - μ : média do grupo 1 (grupo de referência), $\mu = \mu_1$;
 - α_i : incremento (positivo ou negativo) da média do grupo i com relação à média do grupo 1 (grupo de referência), isto é, $\alpha_i = \mu_i - \mu_1$, $i = 2, \dots, r$.

A parametrização de casela de referência será a mais usada no curso.

MODELO DE REGRESSÃO

Consideremos o modelo $y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$, com $\alpha_1 = 0$ (casela de referência). Observemos que

$$\begin{array}{rcl} y_{11} & = & \mu + e_{11} \\ y_{12} & = & \mu + e_{12} \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ y_{1n1} & = & \mu + e_{1n1} \\ y_{21} & = & \mu + \alpha_2 + e_{21} \\ y_{22} & = & \mu + \alpha_2 + e_{22} \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ y_{2n2} & = & \mu + \alpha_2 + e_{2n2} \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ y_{r1} & = & \mu + \alpha_r + e_{r1} \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ y_{rnr} & = & \mu + \alpha_r + e_{rnr} \end{array}$$

MODELO DE REGRESSÃO

O modelo do slide anterior pode ser escrito na forma matricial de um modelo linear como

$$Y = X\beta + e,$$

sendo

$$Y = \begin{bmatrix} Y_{11} \\ Y_{12} \\ \vdots \\ Y_{1n1} \\ Y_{21} \\ \vdots \\ Y_{2n2} \\ \vdots \\ Y_{r1} \\ \vdots \\ Y_{rnr} \end{bmatrix}, \quad X = \begin{pmatrix} 1 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & 0 & \dots & 1 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 1 & 0 & \dots & 1 \end{pmatrix}, \quad \beta = \begin{bmatrix} \mu \\ \alpha_2 \\ \vdots \\ \alpha_r \end{bmatrix}, \quad e = \begin{bmatrix} e_{11} \\ e_{12} \\ \vdots \\ e_{1n1} \\ e_{21} \\ \vdots \\ e_{2n2} \\ \vdots \\ e_{r1} \\ \vdots \\ e_{rnr} \end{bmatrix}$$

MODELO DE REGRESSÃO

O modelo linear na forma matricial pode ser reescrito como o seguinte modelo de regressão (casela de referência), em que consideramos para os α'_i s, $(r - 1)$ variáveis indicadoras, que vão assumir os valores 1 e 0. Temos

$$y_{ij} = \mu X_{ij1} + \alpha_2 X_{ij2} + \alpha_3 X_{ij3} + \dots + \alpha_r X_{ijr} + e_{ij},$$

sendo $X_1 = 1$, para $i = 1, \dots, r$ e $j = 1, \dots, n_i$,

$$X_2 = \begin{cases} 1, & \text{se a observação pertence ao grupo 2;} \\ 0, & \text{caso contrário,} \end{cases}$$

$$X_3 = \begin{cases} 1, & \text{se a observação pertence ao grupo 3;} \\ 0, & \text{caso contrário,} \end{cases}$$

e assim por diante, até

$$X_r = \begin{cases} 1, & \text{se a observação pertence ao grupo } r; \\ 0, & \text{caso contrário.} \end{cases}$$

ESTIMADORES DE MÍNIMOS QUADRADOS

O estimador de mínimos quadrados de β é dado por $\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T Y$.

Tabela 1. Estimadores dos parâmetros (casela de referência).

Parâmetro	Estimador de mínimos quadrados
μ	$\hat{\mu} = \bar{y}_1.$
α_2	$\hat{\alpha}_2 = \bar{y}_2. - \bar{y}_1.$
α_3	$\hat{\alpha}_3 = \bar{y}_3. - \bar{y}_1.$
$\dots$	$\dots$
α_r	$\hat{\alpha}_r = \bar{y}_r. - \bar{y}_1.$

EXEMPLO

A injúria renal aguda (IRA) é inevitável durante o transplante renal e pacientes que sofreram a IRA estão mais suscetíveis a desenvolverem a doença renal crônica e a complicações secundárias. Essas complicações são agravadas quando associadas a um consumo excessivo de sódio.

Ratos foram submetidos a tratamentos distintos e alocados a 6 grupos experimentais, caracterizados pela dieta, [normossódica](#) ou [hipersódica](#), pelo tipo de cirurgia, [Sham](#) ou [isquemia e reperfusão](#), induzindo à condição de IRA, e pelo tipo de tratamento [com](#) ou [sem](#) N-Acetilcisteína (NAC).

O estudo tem como objetivo avaliar o tratamento com NAC e a influência da sobrecarga de sódio após a IRA.

Para isso, foram medidas as seguintes variáveis (em g/cm de fêmur) ao final do estudo: Rim direito, Rim esquerdo e Coração.

EXEMPLO

Os 6 grupos experimentais podem ser descritos como:

1. 9 ratos submetidos à isquemia e reperfusão renal bilateral alimentados com dieta normossódica (IR NR) - Início 16 ratos;
2. 7 ratos submetidos à isquemia e reperfusão renal bilateral alimentados com dieta hipersódica (IR HR) - Início 16 ratos;
3. 8 ratos submetidos à incisão abdominal alimentados com dieta normossódica (Sham NR) - Início 8 ratos;
4. 7 ratos submetidos à incisão abdominal alimentados com dieta hipersódica (Sham HR) - Início 8 ratos;
5. 10 ratos submetidos à isquemia e reperfusão renal alimentados com dieta normossódica e tratados com NAC (IR NAC NR) - Início 12 ratos;
6. 10 ratos submetidos à isquemia e reperfusão renal alimentados com dieta hipersódica e tratados com NAC (IR NAC HR) - Início 12 ratos.

ANÁLISE DESCRITIVA - RIM DIREITO

Tabela 2. Medidas descritivas da variável Rim direito (g/cm fêmur)

Grupo	n	Média	Mediana	Desvio padrão
Sham NR	8	0,51	0,51	0,053
Sham HR	7	0,58	0,54	0,104
IR NR	9	0,46	0,50	0,176
IR HR	7	0,78	0,73	0,218
IR NR NAC	10	0,55	0,61	0,202
IR HR NAC	10	0,66	0,67	0,171

Quando o número de observações é menor do que 10, não se deve construir histogramas ou *boxplots*.

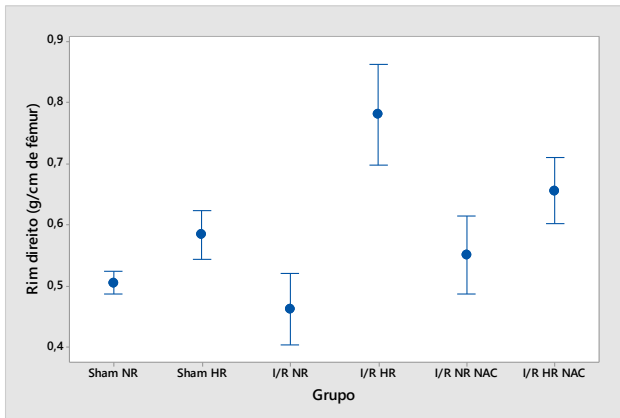


Gráfico 1. Média $\pm$ 1 erro padrão da variável Rim direito por grupo.

MODELO (CASELA DE REFERÊNCIA)

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij},$$

$i = 1, \dots, 6$ (grupos) e $j = 1, \dots, n_i$ (unidades experimentais)

μ e α_i : não aleatórios;

$e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$, independentes;

$\mu + \alpha_i$: média populacional do Rim direito relacionada com o i -ésimo grupo, sendo $\alpha_1 = 0$,

$y_{ij} \sim N(\mu + \alpha_i, \sigma^2)$, independentes.

SUPOSIÇÕES DO MODELO

- Homocedasticidade: Teste de Levene para igualdade de variâncias e gráfico dos resíduos *studentizados* versus os valores ajustados
- Normalidade: Teste de Shapiro-Wilks, teste de Anderson-Darling, *boxplot* e gráfico de probabilidade normal dos resíduos *studentizados*
- Independência entre as observações: Gráfico dos resíduos *studentizados* versus os índices das observações

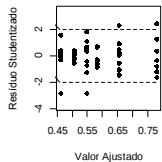
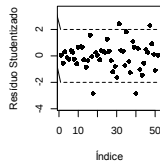
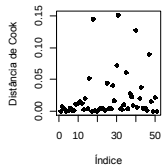
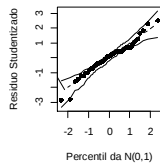


Gráfico 2. Gráficos de diagnóstico

TESTES PARA HOMOCEDASTICIDADE E NORMALIDADE

- Valor-p do Teste de Levene para igualdade de variâncias: 0,353
- Valor-p do Teste de Anderson-Darling para verificação da normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,098
- Valor-p do Teste de Shapiro-Wilks para verificação de normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,125

Suposições parecem satisfeitas.

TABELA DE ANOVA

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_r,$$

ou equivalentemente,

$$H_0 : \alpha_2 = \alpha_3 = \dots = \alpha_r = 0$$

Tabela 3. Tabela de ANOVA

FV	SQ	GL	QM	Estat. F	Valor-p
Grupo	0,520	5	0,104	3,75	0,006
Resíduo	1,247	45	0,028		
Total	1,767	50			

Os resultados da Tabela 3 nos mostram que, ao nível de significância de 10%, há evidência de alguma diferença entre os grupos.

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

Uma vez que a ANOVA indica a existência de diferenças entre as médias, temos interesse em identificar essas diferenças.

Todas as médias diferem entre si? Existem grupos de médias cujos elementos são iguais entre si mas diferentes das médias de outros grupos?

Para resolver essas questões vamos construir comparações múltiplas, controlando o coeficiente de confiança global.

Dentre os métodos existentes, vamos utilizar o de Bonferroni em que adotamos, para cada comparação entre duas médias quaisquer, um nível de significância igual a

$$\alpha_g/c,$$

sendo α_g , o nível de significância global fixado e c , o número de comparações realizadas.

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

A partir do modelo de regressão (casela de referência)

$$E(y_{ij}) = \mu X_{ij1} + \alpha_2 X_{ij2} + \alpha_3 X_{ij3} + \dots + \alpha_r X_{ijr}$$

observamos que

- $E(y_{1.}) = \mu_1 = \mu$
- $E(y_{2.}) = \mu_2 = \mu + \alpha_2$, e assim sucessivamente, até
- $E(y_{r.}) = \mu_r = \mu + \alpha_r$.

Assim,

- $\mu_i - \mu_1 = \alpha_i$, $i = 2, \dots, r$.
- $\mu_k - \mu_i = \alpha_k - \alpha_i$, $k, i = 2, \dots, r$, $k > i$.

As hipóteses relativas às igualdades de médias podem ser escritas, em forma matricial, como

$$H_0 : c_{(1 \times r)} \beta_{(r \times 1)} = 0_{(1 \times 1)} \quad \text{vs} \quad H_1 : c_{(1 \times r)} \beta_{(r \times 1)} \neq 0_{(1 \times 1)}$$

Em geral, o vetor c é um vetor denominado contraste (vetor cuja soma dos elementos é igual a 0).

Lembrar que $\beta_{(1 \times r)}^\top = \{\mu, \alpha_2, \alpha_3, \dots, \alpha_r\}$.

Dessa forma, para testar, por exemplo,

- $H_0 : \mu_2 = \mu_1$, teríamos $c = [0, 1, 0, 0, 0, 0]$ (c não é um contraste)
- $H_0 : \mu_3 = \mu_2$, teríamos $c = [0, -1, 1, 0, 0, 0]$ (c é um contraste).

Como testar as hipóteses $H_0 : c_{(1 \times r)} \beta_{(r \times 1)} = 0_{(1 \times 1)}$?

Lembrar que

$$\hat{\beta} \sim N_r(\beta, \sigma^2(X^\top X)^{-1}),$$

sendo $X_{(n \times r)}$ a matriz de planejamento dada por $X = [X_{ij1}, X_{ij2}, \dots, X_{ijr}]$ (ver slide 7) e que

$$c\hat{\beta} \sim N(c\beta, \sigma^2 c(X^\top X)^{-1} c^\top).$$

Pode-se mostrar que, sob H_0 ,

$$F^* = \frac{1}{\hat{\sigma}^2} (c\hat{\beta})^\top (c(X^\top X)^{-1} c^\top)^{-1} (c\hat{\beta}) \sim F_{(1, n-r)}.$$

O valor-p associado ao teste da hipótese H_0 pode ser calculado como

$$P(F > f^*),$$

em que $F \sim F_{(1, n-r)}$ e f^* é o valor observado de F .

RIM DIREITO - ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS

Vamos adotar $\alpha_g = 10\%$. Como o número de comparações entre as médias do Rim direito sob os 6 grupos é igual a 15, vamos considerar para cada comparação um nível de significância igual a $0,10/15 = 0,007$.

Tabela 4. Estimativas dos parâmetros do modelo

Parâmetro	Estimativa	Erro padrão	Estat. t	Valor-p
μ	0,505	0,059	8,587	<0,001
α_2	0,079	0,086	0,913	0,366
α_3	-0,044	0,081	-0,544	0,589
α_4	0,276	0,086	3,201	0,003
α_5	0,045	0,079	0,566	0,574
α_6	0,150	0,079	1,905	0,063

Ao nível de significância global igual a 5%, não há evidência de diferenças entre os grupos Sham NR e Sham HR, Sham NR e IR NR, Sham NR e IR NR NAC e Sham NR e IR HR NAC. No entanto, há evidência de diferença entre os grupos Sham NR e IR HR.

RIM DIREITO - COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS

Tabela 5. Comparações entre as médias do Rim direito sob os 6 grupos, duas a duas

	Sham NR	Sham HR	IR NR	IR HR	IR NR NAC	IR HR NAC
Sham NR	-	0,366	0,589	0,003	0,574	0,063
Sham HR		-	0,151	0,032	0,681	0,386
IR NR			-	< 0,001	0,253	0,015
IR HR				-	0,007	0,134
IR NR NAC					-	0,163

Os resultados da Tabela 5 nos mostram que, ao nível de significância global igual a 10%, há evidência de diferença apenas entre os grupos Sham NR e IR HR, entre os grupos IR NR e IR HR e entre os grupos IR NR NAC e IR HR sendo que em todos os casos, a média do Rim direito é maior no grupo IR HR (Tabela 2).

ANÁLISE DESCRITIVA - RIM ESQUERDO

Tabela 6. Medidas descritivas da variável Rim esquerdo (g/cm fêmur)

Grupo	n	Média	Mediana	Desvio padrão
Sham NR	8	0,49	0,51	0,049
Sham HR	7	0,60	0,53	0,134
IR NR	9	0,64	0,58	0,202
IR HR	7	0,84	0,69	0,297
IR NR NAC	10	0,54	0,50	0,155
IR HR NAC	10	0,64	0,51	0,261

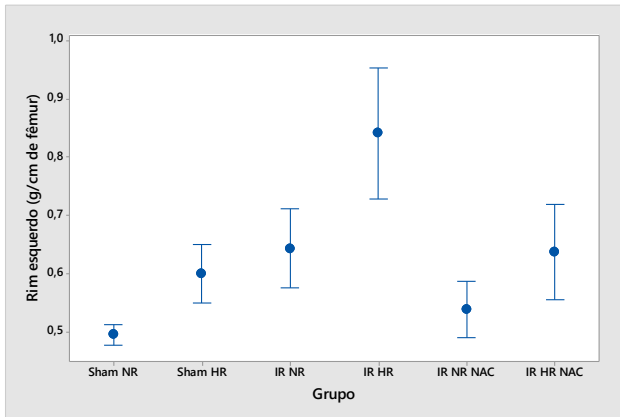


Gráfico 3. Média $\pm$ 1 erro padrão da variável Rim esquerdo por grupo.

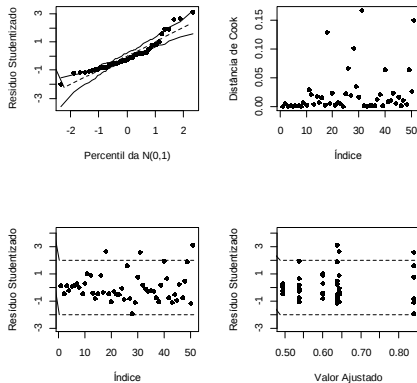


Gráfico 4. Gráficos de diagnóstico – Rim esquerdo

TESTES PARA HOMOCEDASTICIDADE, NORMALIDADE e IGUALDADE DE DISTRIBUIÇÕES

- Valor-p do Teste de Levene para igualdade de variâncias: 0,243
- Valor-p do Teste de Anderson-Darling para verificação da normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,0002
- Valor-p do Teste de Shapiro-Wilks para verificação de normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,0006

Suposições de normalidade não parece satisfeita. Os valores-p indicam grande fuga da normalidade.

Teste de Kruskal-Wallis para comparar as distribuições (valor-p = 0,061). Ao nível de significância de 5% não rejeitamos a hipótese de igualdade entre as distribuições da variável Rim esquerdo sob os 6 grupos.

ANÁLISE DESCRITIVA - CORAÇÃO

Tabela 7. Medidas descritivas da variável Coração (g/cm fêmur)

Grupo	n	Média	Mediana	Desvio padrão
Sham NR	8	0,43	0,43	0,035
Sham HR	7	0,45	0,44	0,065
IR NR	9	0,41	0,41	0,033
IR HR	7	0,59	0,58	0,165
IR NR NAC	10	0,40	0,40	0,044
IR HR NAC	10	0,44	0,44	0,072

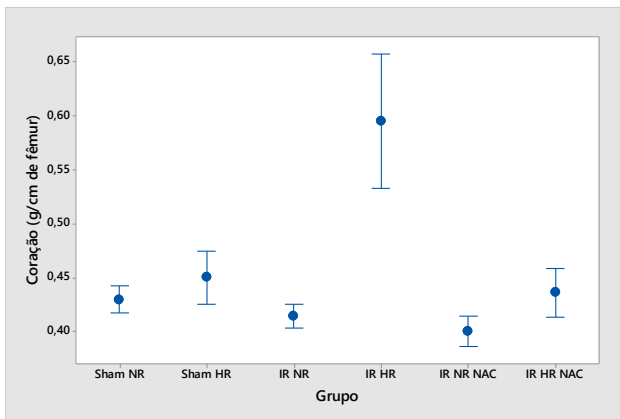


Gráfico 5. Média $\pm$ 1 erro padrão da variável Coração por grupo.

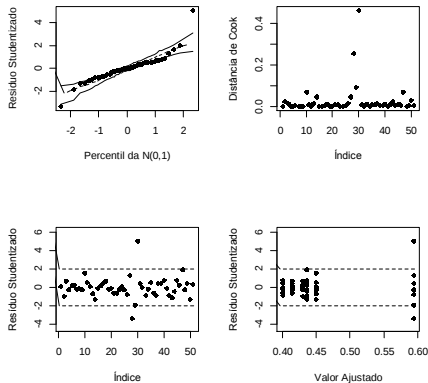


Gráfico 6. Gráficos de diagnóstico – A juste de um modelo de ANOVA homocedástico - Coração

TESTES PARA HOMOCEDASTICIDADE, NORMALIDADE e IGUALDADE DE DISTRIBUIÇÕES

- Valor-p do Teste de Levene para igualdade de variâncias: 0,005
- Valor-p do Teste de Anderson-Darling para verificação da normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,0001
- Valor-p do Teste de Shapiro-Wilks para verificação de normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): $< 0,0001$

Suposições de homocedasticidade e normalidade não parecem satisfeitas (valores-p muito pequenos).

Vamos ajustar um modelo de regressão por Mínimos Quadrados Ponderados com pesos iguais ao inverso das variâncias em cada grupo.

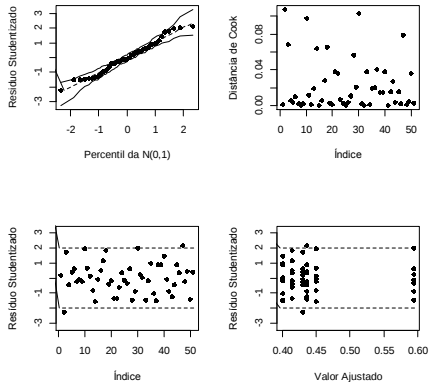


Gráfico 7. Gráficos de diagnóstico – MQP - Coração

TESTES PARA HOMOCEDASTICIDADE, NORMALIDADE e IGUALDADE DE DISTRIBUIÇÕES - MQP

- Valor-p do Teste de Levene para igualdade de variâncias (resíduos *studentizados*): 0,999
- Valor-p do Teste de Anderson-Darling para verificação da normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,502
- Valor-p do Teste de Shapiro-Wilks para verificação de normalidade dos erros aleatórios (resíduos *studentizados*): 0,590

Suposição de normalidade parece satisfeita.

TABELA DE ANOVA - MQP

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_r,$$

ou equivalentemente,

$$H_0 : \alpha_2 = \alpha_3 = \dots = \alpha_r = 0$$

Tabela 8. Tabela de ANOVA - MQP

FV	SQ	GL	QM	Estat. F	Valor-p
Grupo	12,56	5	2,513	2,53	0,042
Resíduo	44,73	45	0,994		
Total	57,29	50			

Os resultados da Tabela 8 nos mostram que, ao nível de significância de 10%, há evidência de alguma diferença entre os grupos.

CORAÇÃO - COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS - MQP

Tabela 9. Comparações entre as médias do Coração sob os 6 grupos, duas a duas

	Sham NR	Sham HR	IR NR	IR HR	IR NR NAC	IR HR NAC
Sham NR	-	0,464	0,359	0,012	0,121	0,807
Sham HR		-	0,195	0,036	0,086	0,678
IR NR			-	0,007	0,429	0,398
IR HR				-	0,004	0,021
IR NR NAC					-	0,187

Os resultados da Tabela 5 nos mostram que, ao nível de significância global igual a 10%, há evidência de diferença entre os grupos IR HR e IR NR e entre os grupos IR HR e IR NR NAC, sendo a média do Coração é maior no grupo IR HR (Tabela 7).