Математические методы в биологии

Блок 3. Математическая статистика

Лекция 6

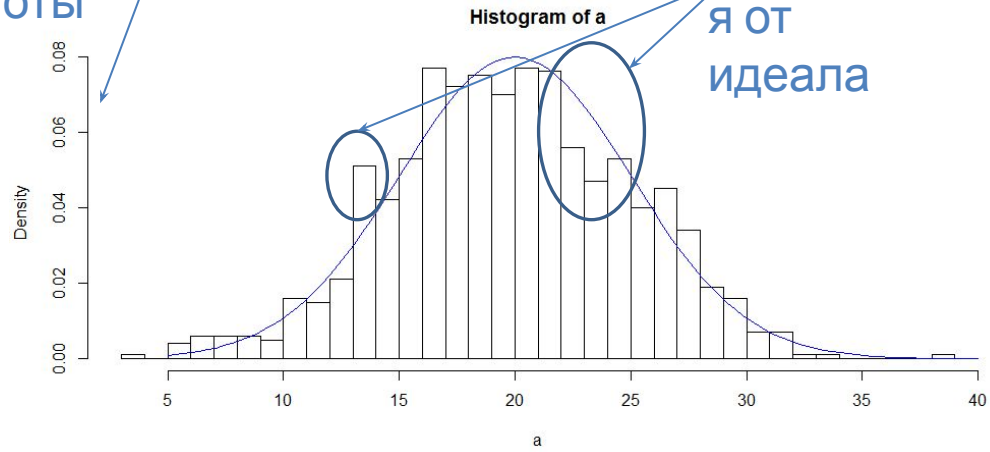
Козлова Ольга Сергеевна
89276755130, olga-sphinx@yandex.ru

Проверка распределения на нормальность

1000 случайных значений, распределённых по нормальному закону с μ=20 и σ=5
Синяя линия – кривая плотности идеального нормального распределения с μ=20 и σ=5

Вероятности, не частоты

Отклонения от идеала

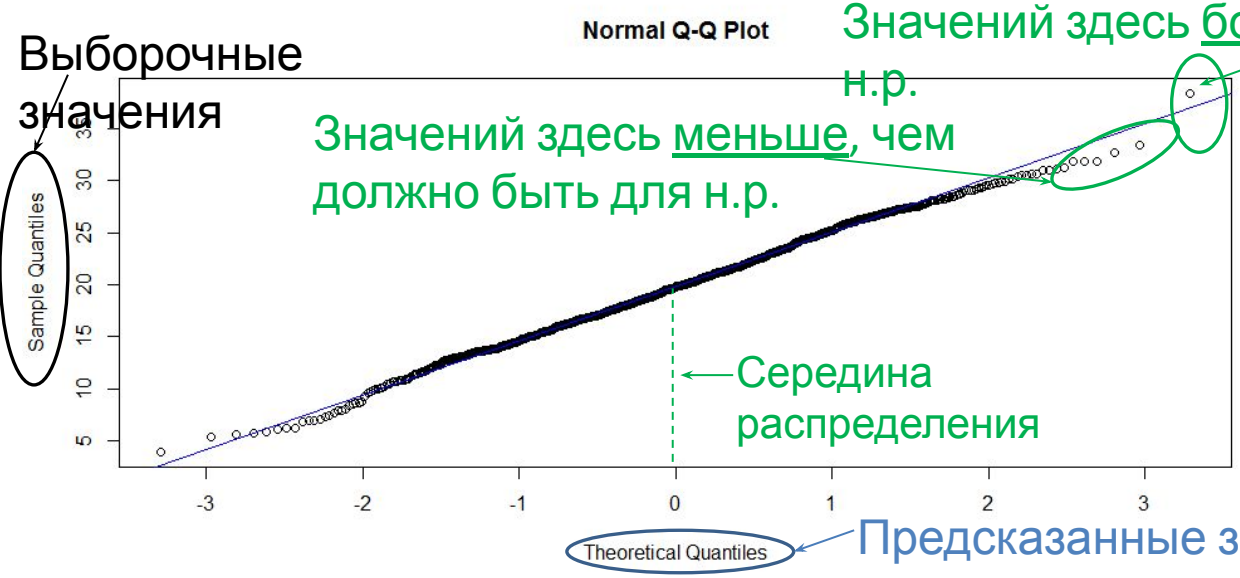


Любые экспериментальные данные всегда отклоняются от «сферического нормального распределения в вакууме»!

Выборочные значения

Значений здесь больше, чем должно быть для н.р.

Значений здесь меньше, чем должно быть для н.р.



Середина распределения

Предсказанные значения по норм.

Quantile-Quantile plot (Q-Q Plot)
Квантиль – значение, которое делит упорядоченную выборку на несколько равных частей

Формальные тесты на нормальность

- Визуализация (гистограмма или Q-Q plot) позволяют определить, в каких конкретно точках выборочные значения отклоняются от нормального распределения. При этом Q-Q plot предпочтительней, когда наблюдений мало.
- Формальные тесты отвечают на вопрос, нормально ли распределение в принципе.

<u>Тест Шапиро-Уилкса</u>

H_0: выборка распределена по нормальному закону (☺)

H_1: выборка распределена по нормальному закону (☹)

⇒ Если p-value>0,05 – распределение соответствует нормальному закону (☺)

<u>Тест Колмогорова-Смирнова</u>

H_0: случайная величина X (значения признака в выборке) имеет распределение F(X) (нормальное распределение – частный случай)

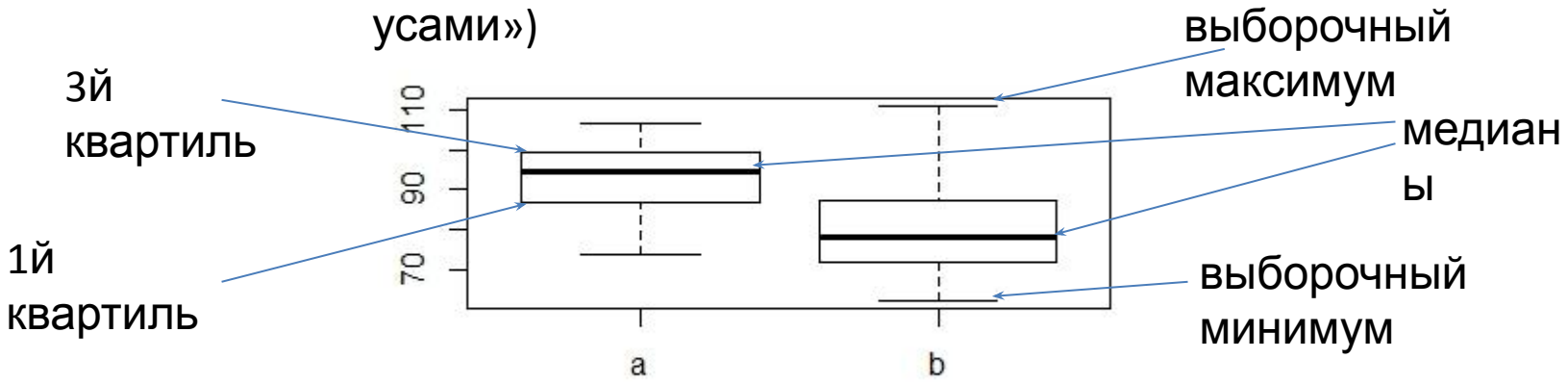
H_1: её распределение отличается от F(X)

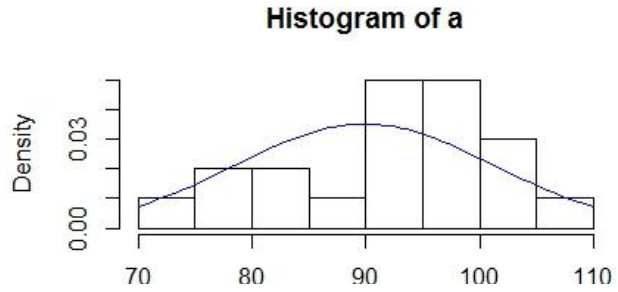
=> Если p-value>0,05 – случайная величина имеет распределение F(X)

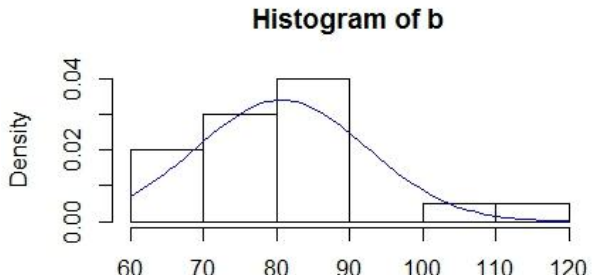
Почему это важно?

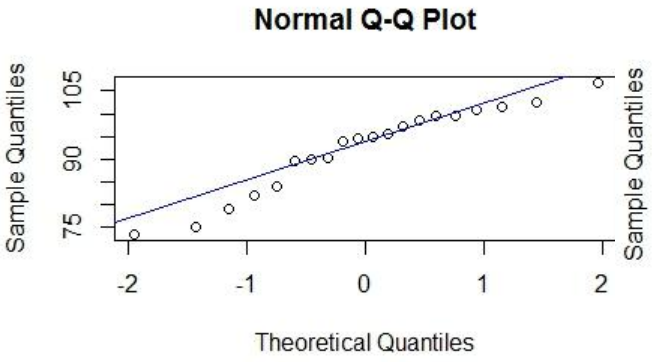
- Две нормальные выборки: a(n=20,μ=89.9,σ=11.3) и b(n=20,μ=80.7,σ=11.7)

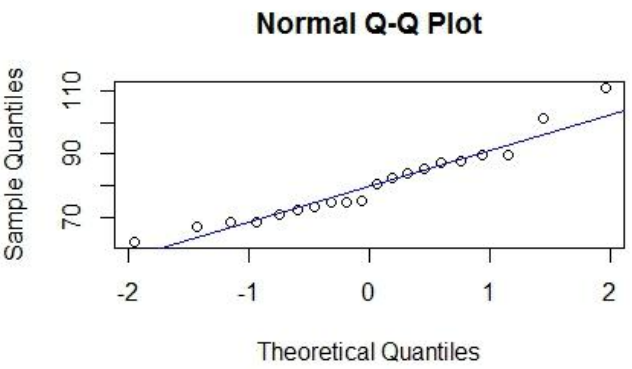
Диаграмма типа boxplot («ящик с усами»)











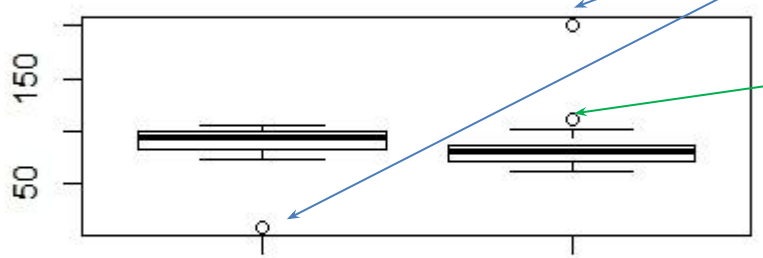
Формальные тесты:

- Шапиро-Уилкс
  p-value(a)=0,1722
  p-value(b)=0,2233
- Колмогоров-Смирнов
  p-value(a)=0,1626
  p-value(b)=0,1595

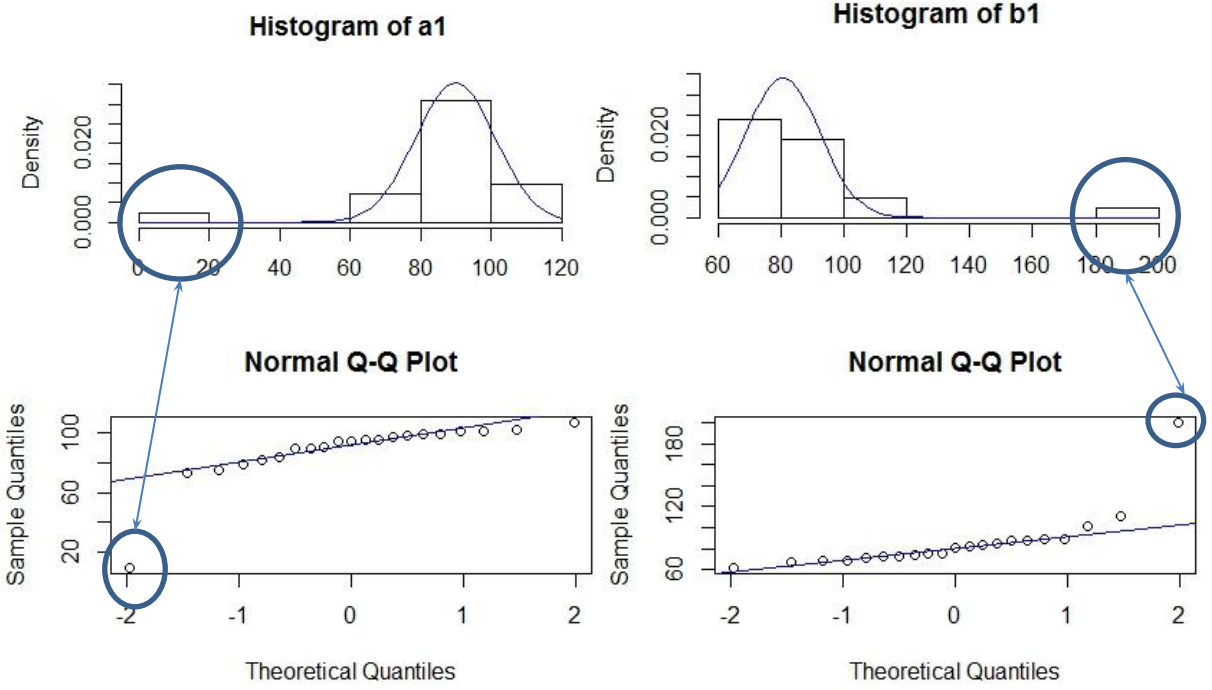
Тест Стьюдента:
p-value = 0,00112
=>H_0 отвергаем
средние не равны!

Как испортить ~~себе жизнь~~ нормальность?

- Добавим экстремально отстоящие от выборки значения (выбросы)



Ещё один выброс, образованный вследствие сдвига квартилей



Формальные тесты:

- Шапиро-Уилкс
  p-value(a)=$6.725*10^{-6}$
  p-value(b)=$2.202*10^{-6}$

Колмогоров-Смирнов
p-value(a)=0,003918
p-value(b)=$1.653*10^{-5}$

Тест Стьюдента:
p-value = 0,7435
=>H_0 не отвергаем

Непарам.аналог:
p-value=0,01167

Однофакторный дисперсионный анализ

- Сравниваем между собой не две, а несколько групп

Пример. Длина лепестка у ирисов трёх сортов

- Наблюдения делятся на группы по факторному (номинативному) признаку, выраженному независимой переменной

Пример. Все собранные ирисы делятся на три группы – сорт Versicolor, сорт Virginica и сорт Setosa. Переменная «сорт ириса» – независимая переменная.

- Изучаем зависимую переменную – количественную переменную, выраженность которой зависит от независимой.

Пример. Зависимая переменная – длина лепестка ириса.

Virginica

Setosa

Versicolor

Задача: зависит ли длина лепестка ириса от того, к какому сорту он принадлежит?

Условный пример

Пусть собрано 9 цветков ириса – по 3 для каждого сорта.

Сорт ириса	Setosa	Virginica	Versicolor
Первый цветок (длина лепестка)	3	5	7
Второй цветок (длина лепестка)	1	3	6
Третий цветок (длина лепестка)	2	4	5

H_0: $\mu_{setosa} = \mu_{virginica} = \mu_{versicolor}$ (все выборки – из одной ГС)

H_1: хотя бы одно истинное среднее отлично от остальных

Решение. Рассчитаем общее среднее для всех выборок:

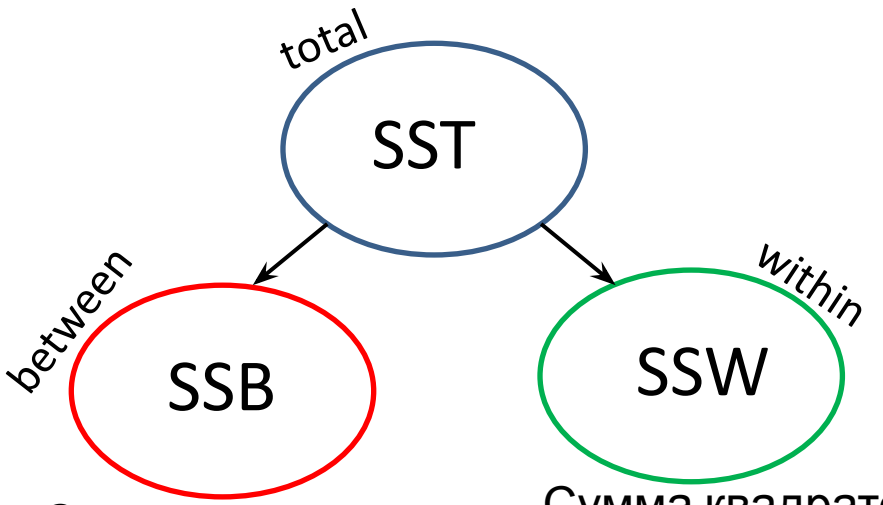
$$\bar{\bar{x}} = \frac{3+1+2+5+3+4+7+6+5}{9} = 4$$

Введём понятие общей суммы квадратов отклонений (SST = sum of squares total). Это показатель, характеризующий изменчивость данных без учёта деления на группы.

$$SST = \sum (x - \bar{\bar{x}})^2 = (3-4)^2+(1-4)^2+(2-4)^2+(5-4)^2+(3-4)^2+(4-4)^2+(7-4)^2+(6-4)^2+(5-4)^2$$

$$= 1+9+4+1+1+0+9+4+1 = 30$$

Ещё об общей сумме квадратов



Сумма квадратов отклонений между группами

Сумма квадратов отклонений внутри групп

$\overline{x_1} = 2 \quad \overline{x_2} = 4 \quad \overline{x_3} = 6$

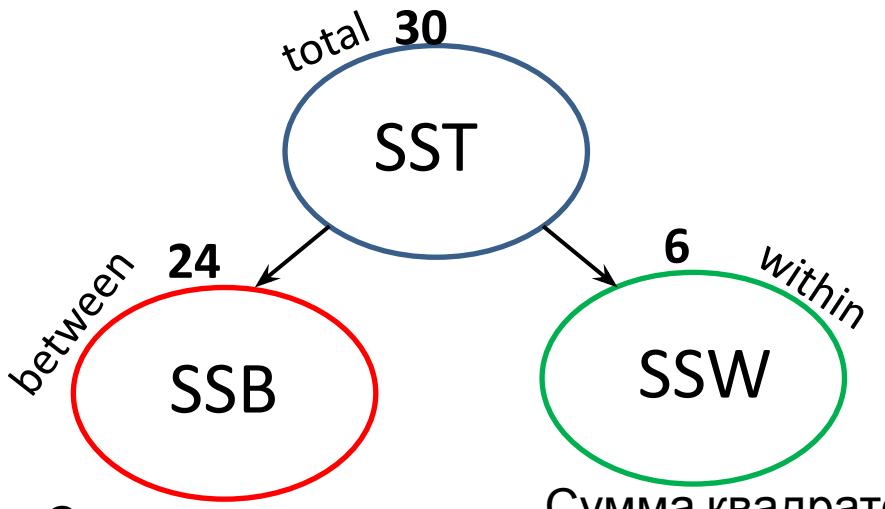
Setosa	Virginica	Versicolor
3	5	7
1	3	6
2	4	5

$$SSW = \sum_{\text{по 1й группе}}(x-\bar{x})^2 + \sum_{\text{по 2й группе}}(x-\bar{x})^2 + \sum_{\text{по 3й группе}}(x-\bar{x})^2 + \ldots =$$
$$(3-2)^2 + (1-2)^2 + (2-2)^2 + (5-4)^2 + (3-4)^2 + (4-4)^2 + (7-6)^2 +$$
$$(6-6)^2 + (5-6)^2 = 6$$

$$SSB = \sum n(\bar{x}-\bar{\bar{x}})^2 = 3*(2-4)^2 + 3*(4-4)^2 + 3*(6-4)^2 = 24$$

число элементов в группе

Итак,



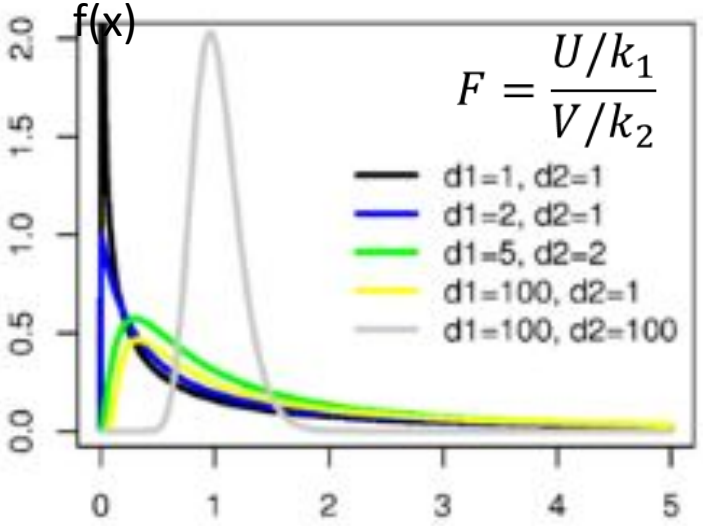
Сумма квадратов отклонений между группами

Сумма квадратов отклонений внутри групп

БОльшая часть общей изменчивости обеспечивается изменчивостью между группами, значит, группы-таки различаются между собой

<u>Назад, к статистике:</u> SSB и SSW – это случайные величины, имеющие распределение χ^2 (представляют собой суммы квадратов нормальных с.в.). Если скорректировать их на число степеней свободы и поделить SSB на SSW, получим с. в., распределённую по закону Фишера. Для SSB ч.с.св. = числу групп – 1, для SSW = числу наблюдений – число групп.

Плотность распределения f(x)



- F-значение

$$F = \frac{\frac{SSB}{m-1}}{\frac{SSW}{N-m}}$$

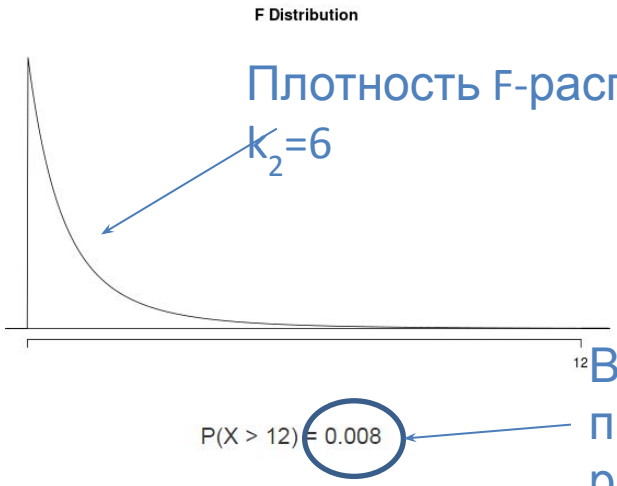
Смысл F-значения: показывает, во сколько раз межгрупповая вариабельность превышает внутригрупповую

Число групп

Число наблюдений (в целом)

F-значение для нашего примера: $F = \frac{\frac{24}{2}}{\frac{6}{6}} = 12$

ВОПРОС: какова вероятность получить такое или ещё более крупное значение при условии, что верна H_0?



Плотность F-распределения при k_1=2 и k_2=6

Вероятность того, что межгрупповая вариабельность бу
превышать внутригрупповую в 12 и более раз при услов
равенства средних

Задача

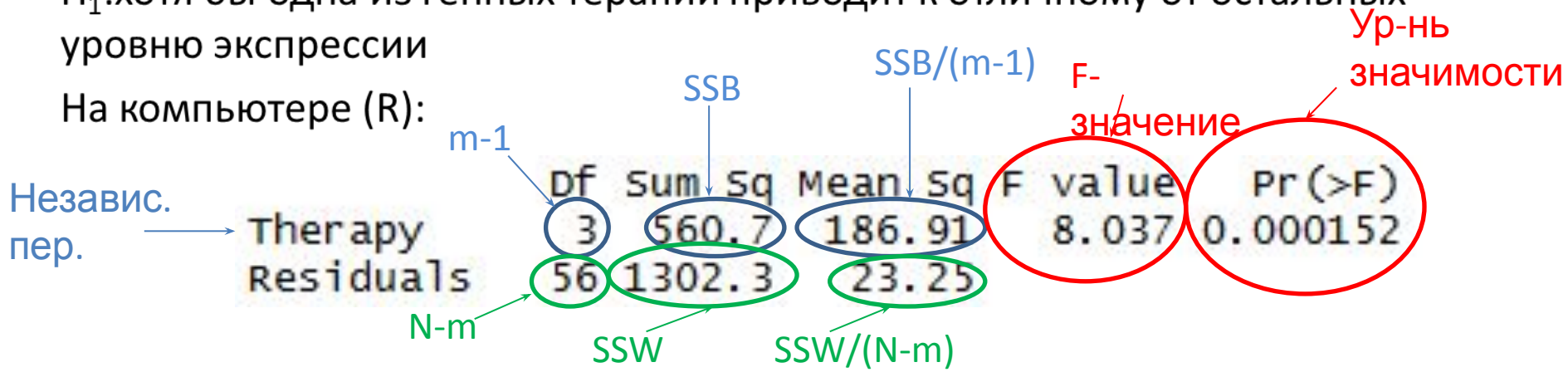
- Будем изучать влияние генной терапии (независимая переменная) на уровень экспрессии гена (зависимая переменная).

Терапия	Объём выборки (число пациентов)	Выборочные средний уровень экспрессии	Выборочное стандартное отклонение
A	15	99,7	4,1
B	15	98,8	5,8
C	15	94,4	5,1
D	15	92,3	3,8

H_0: $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$

H_1:хотя бы одна из генных терапий приводит к отличному от остальных уровню экспрессии

На компьютере (R):



Множественные сравнения

ВОПРОС: Можем ли мы теперь сказать, какая конкретно пара терапий статистически значимо различается между собой по уровню экспрессии гена?

ВСПОМНИМ КОМБИНАТОРИКУ И ТЕРВЕР. Сколько попарных сравнений надо выполнить, чтобы перебрать все возможные пары A,B,C,D?

$$C_4^2 = \frac{4!}{2!\,(4-2)!} = 6$$

Пусть пороговое значение отвержения H_0 = 0,05, т.е. вероятность совершить ошибку 1го рода для каждого из 6 тестов равна 0,05. Какова вероятность того, что хотя бы в одном из 6 тестов будет совершена ошибка первого рода (H_0 будет отклонена неправомерно, а различия между средними на самом деле случайны)?

Вероятность не-совершения ошибки = 0,95. $0{,}95^6 = 0{,}735$ (вероятность того, что не будет совершена ошибка в 6 тестах), значит, вероятность того, что хотя бы в одном из тестов она будет совершена, = 1-0,735=0,265.

Вывод. Даже если различий между средними на самом деле нет, в 26,5% случаев при извлечении 4х выборок из одной ГС между какими-то из них мы будем получать статистически значимые различия!

Что же делать?

- Поправка на множественное сравнение Бонферрони.

Идея. Вероятность совершения ошибки первого рода растёт пропорционально увеличению числа попарных сравнений. Почему бы не уравновесить этот рост с помощью корректировки критического p-value в сторону убывания?

А именно, разделим критическое значение p-value на число попарных сравнений: 0,05/6=0,008333. Тогда вероятность того, что в 6ти тестах будет совершена хотя бы одна ошибка 1го рода = $1-(1-0{,}008333)^6 = 0{,}049$.

НО! Сильное снижение критического уровня p-value ведёт к увеличению вероятности совершить ошибку 2го рода (H_0 не отвергается, хотя должна была бы).

- Альтернатива – использование критерия Тьюки *(критерий достоверно значимой разности Тьюки, Tukey's honestly significant difference test, Tukey's HSD test)*

  - похож на критерий Стьюдента, но стандартная ошибка среднего рассчитывается по-другому

Критерий Тьюки

- Пусть есть m групп: A,B,C,…
- $H_0: \mu_A = \mu_B$, $H_1: \mu_A \neq \mu_B$

Для каждого из попарных сравнений рассчитывается величина:

$$q = \frac{\overline{x_A} - \overline{x_B}}{\sqrt{\frac{SSW}{\frac{N-m}{n}}}}$$

средняя внутригрупповая сумма квадратов

Число наблюдений в группе A (B)

Если число наблюдений в A и B разное, то

$$q = \frac{\overline{x_A} - \overline{x_B}}{\sqrt{\frac{SSW}{N-m} * \frac{1}{2} * (\frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B})}}$$

В нашем примере

разность средних

дов.инт-л

ур-нь значимости

Стат.значимые рез-ты (дов.инт-л не включает 0)

$Therapy

	diff	lwr	upr	p adj
B-A	-0.9333333	-5.595897	3.7292308	0.9514195
C-A	-5.3333333	-9.995897	-0.6707692	0.0188860
D-A	-7.4000000	-12.062564	-2.7374358	0.0005424
C-B	-4.4000000	-9.062564	0.2625642	0.0710413
D-B	-6.4666667	-11.129231	-1.8041025	0.0029443
D-C	-2.0666667	-6.729231	2.5958975	0.6457935

Двухфакторный дисперсионный анализ

- Не одна независимая переменная, а две.

Пример. Уровень экспрессии гена в зависимости от дозировки лекарств (высокая/низкая) и возраста пациента (молодой/пожилой).

Возраст	Дозировка		sd	n
молодые	высокая	104,8	5,8	16
молодые	низкая	105,5	4,4	16
пожилые	высокая	101	5,1	16
пожилые	низкая	102,3	5,1	16

Результат дисперсионного анализа:

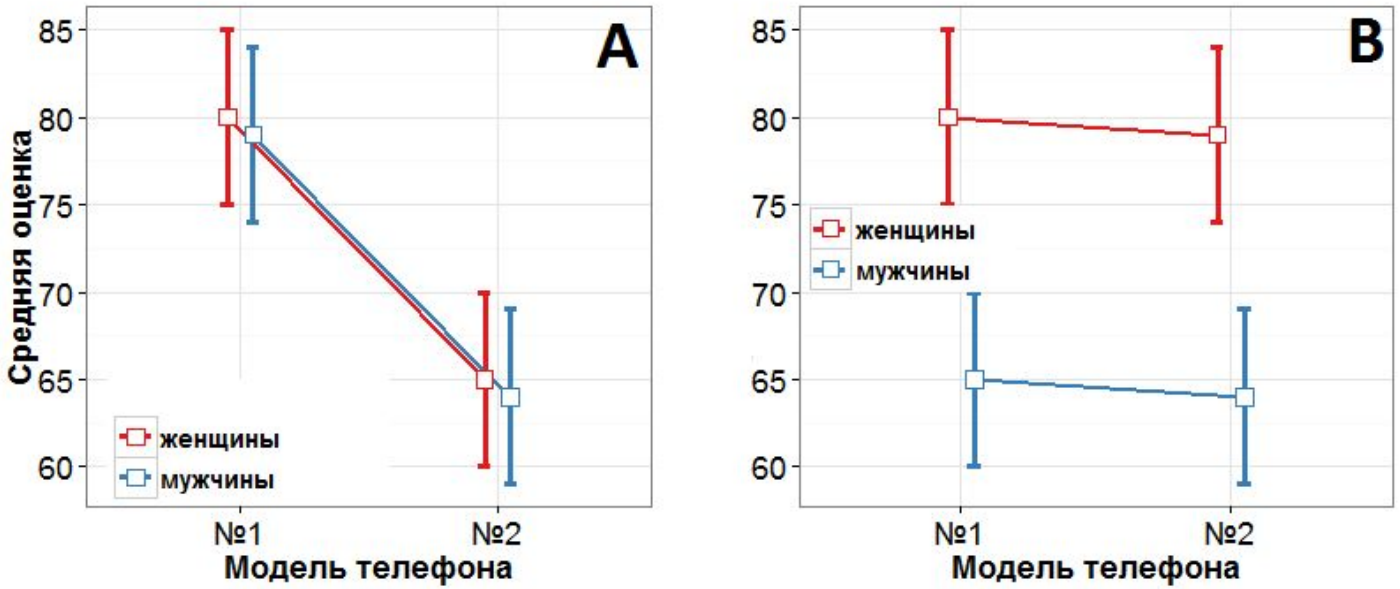
```
            Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
age          1  197.5  197.45   7.570 0.0078 **
dose         1   16.9   16.91   0.648 0.4238
Residuals   61 1591.2   26.08
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
```

В отличие от однофакторного, $SST=SSW+SSB_A+SSB_B+SSB_{A+B}$

Изменчивость, обусловленная взаимодействием факторов

Как это выглядит?

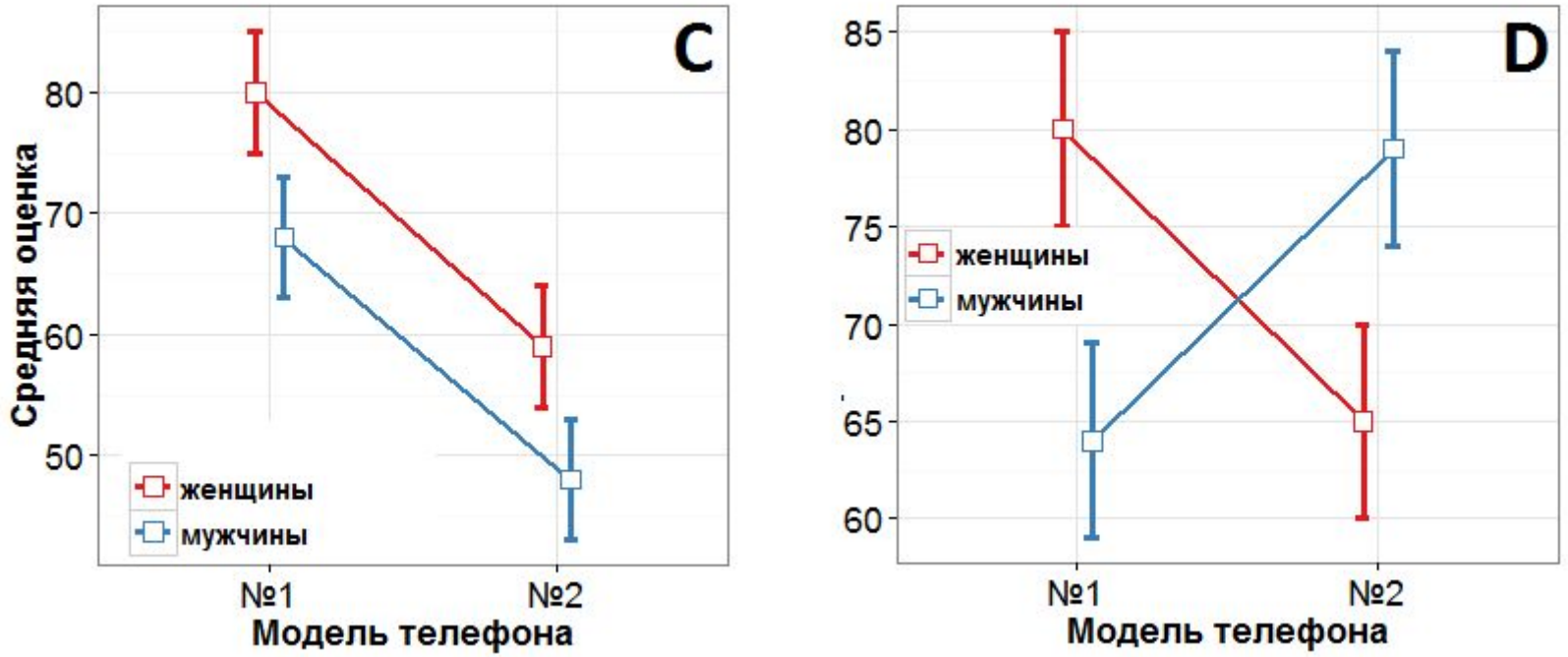
Фокус-группа из 100 мужчин и 100 женщин оценивает два телефона (модель №1 и модель №2) по 100-балльной шкале. Независимые переменные (факторы) – пол и модель телефона, зависимая переменная – оценка телефона по 100-балльной шкале.



A – значимый эффект только фактора «модель телефона» (и М, и Ж больше нравится 1я модель)

B – значимый эффект только фактора пола (женщинам в принципе больше нравятся телефоны)

Как это выглядит?



C – значимый эффект обоих факторов (женщинам в принципе больше, чем мужчинам, нравятся телефоны, но при этом и те, и другие более высоко оценили 1ю модель)

D – значимое взаимодействие факторов (мужчины оценили вторую модель выше, чем первую, а женщины – наоборот). **Т.е. влияние одного фактора на зависимую переменную проявляется по-разному в зависимости от того, какое значение примет другая**

Требования к использованию дисперсионного анализа

- Нормальность распределения зависимой переменной в каждой из групп
- Гомогенность дисперсий (дисперсии признака внутри групп равны между собой)

Могут нарушаться при большом объёме выборок (>50).

Нормальность распределения проверяется:

- Графически (гистограмма плотности вероятностей, qq-plot)
- Формальными тестами (Шапиро-Уилкса, Колмогорова-Смирнова)

Гомогенность дисперсий проверяется:

- Графически (боксплот)
- Формальными тестами (тест Левена, при $p>0,05$ дисперсии одинаковы)

Резюме по сравнению средних

- Для сравнения средних значений в двух группах – t-test
- Для сравнения средних в трёх и более группах – дисперсионный анализ
- Если результаты дисперсионного анализа говорят, что по крайней мере в двух группах средние различны, – использовать критерий Тьюки

Домашнее задание

- Посмотреть научно-популярный доклад «Статистика и плохая наука: как поправка на множественные сравнения объясняет парадоксальные результаты исследований»

Ссылка:
https://www.youtube.com/watch?v=dcVG0NtZMwE