

CLASE 11 - PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS

Curso Análisis de expresión diferencial de genes e
investigación reproducible.

Dr. José Gallardo Matus | <https://genomics.pucv.cl/>

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

04 November 2022

PLAN DE LA CLASE

1.- Introducción

- ▶ ¿Qué son las pruebas no paramétricas?.
- ▶ Test de Correlación no paramétrico.
- ▶ Pruebas de contraste no paramétrico.
- ▶ Prueba de asociación Chi cuadrado.

2.- Práctica con R y Rstudio cloud

- ▶ Realizar pruebas no paramétricas.
- ▶ Realizar gráficas avanzadas con ggplot2.

MÉTODOS NO PARAMÉTRICOS

- ▶ Conjunto diverso de pruebas estadísticas.
- ▶ El concepto de “no paramétrico” a veces es confuso, pues los métodos no paramétricos si estiman y someten a prueban hipótesis usando parámetros, pero no los de distribución normal.
- ▶ Se aplican usualmente cuando hay pocas réplica biológicas, cuando la variables aleatoria (ej. FC o delta ct) no cumple con el supuesto de normalidad.
- ▶ El concepto matemático de permutación está subyacente a muchos métodos no paramétricos y se utiliza para someter a prueba las hipótesis.

SUPUESTOS DE LOS MÉTODOS NO PARAMÉTRICOS

- ▶ Las variables son independientes.
- ▶ Muestras independientes con idéntica distribución.
- ▶ No tienen supuestos acerca de la distribución de la variable (algunas asumen chi-cuadrado).
- ▶ La distribución del estadístico se estima muy a menudo por permutación.

PRUEBA DE CORRELACIÓN NO PARAMÉTRICA: SPEARMAN

¿Para que sirve?

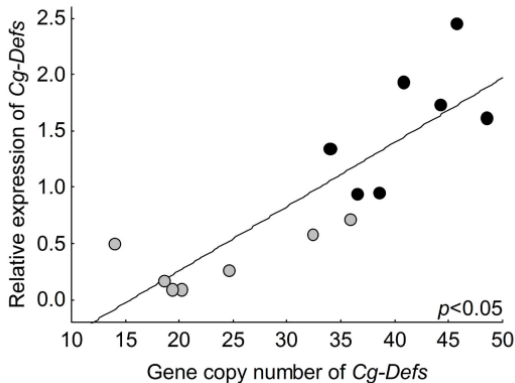
Para estudiar asociación de dos variables, cuando no se cumple uno o varios supuestos de la correlación paramétrica:

- ▶ Las variables X e Y no son continuas.
- ▶ No existe relación lineal.
- ▶ La distribución conjunta de (X, Y) no es una distribución Bivariable normal.

ESTUDIO DE CASO: CORRELACIÓN COPIAS Y EXPRESIÓN GEN DEFENSINA

Schmitt et al. 2013: Relación lineal entre número de copias del gen y su expresión.

¿Cuál es el supuesto que no se cumple?



PRUEBA DE HIPÓTESIS CORRELACIÓN DE SPEARMAN

```
# Realiza test de correlación  
cor.test(gene_number,expression, method = "spearman",  
         alternative = "two.sided") %>% pander()
```

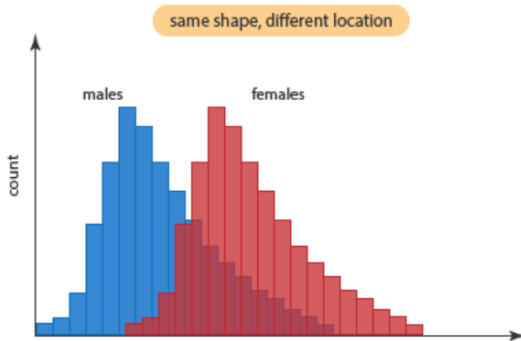
Table 1: Spearman's rank correlation rho: gene_number and expression

Test statistic	P value	Alternative hypothesis	rho
4	0.03333 *	two.sided	0.8857

PRUEBA DE MANN-WHITNEY (W): COMPARACIÓN 2 MUESTRAS INDEPENDIENTES

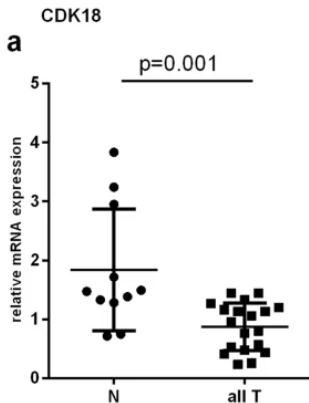
¿Para qué sirve?

Para comparar dos muestras con idéntica distribución, con diferentes medianas y sin normalidad.



ESTUDIO DE CASO: EXPRESIÓN CDK18 EN SANGRE

Simonovic et al. 2020: Comparación de expresión relativa de CDK18 en sangre de pacientes sanos (N) y con tumor (T) renal.



PRUEBA DE HIPÓTESIS DE MANN-WHITNEY

```
# Realiza prueba de Mann-Whitney  
wilcox.test(normal, tumoral, alternative = "two.sided",  
            paired = FALSE) %>% pander()
```

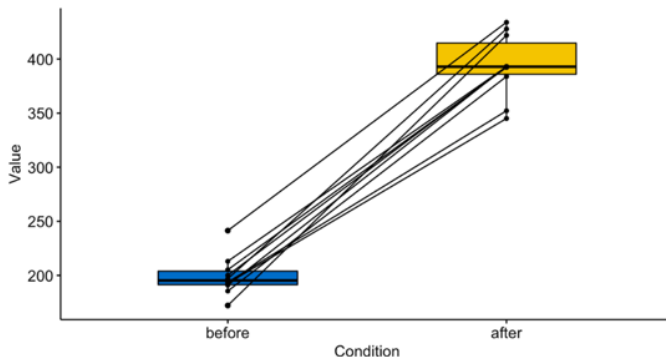
Table 2: Wilcoxon rank sum test with continuity correction: normal and tumoral

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
136.5	0.001201 * *	two.sided

PRUEBA DE WILCOXON MUESTRAS PAREADAS

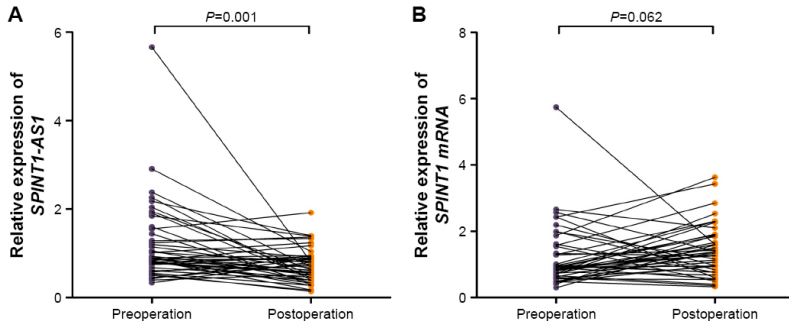
¿Para que sirve?

Para comparar dos muestras *pareadas* con idéntica distribución, con diferentes medianas y sin normalidad.



ESTUDIO DE CASO: BIOMARCADOR PARA TERAPIA DE CANCER COLORRECTAL

Li et al. 2018. Expresión del gen SPINT1-AS1 (A) y SPINT1 (B) en 45 pares de muestras pre y post-operados de cancer colorrectal.



PRUEBA DE HIPÓTESIS DE WILCOXON

```
# Realiza prueba de Wilcoxon  
wilcox.test(FC ~ Tratamiento, data = data,  
            alternative = "two.sided",  
            paired = TRUE) %>% pander()
```

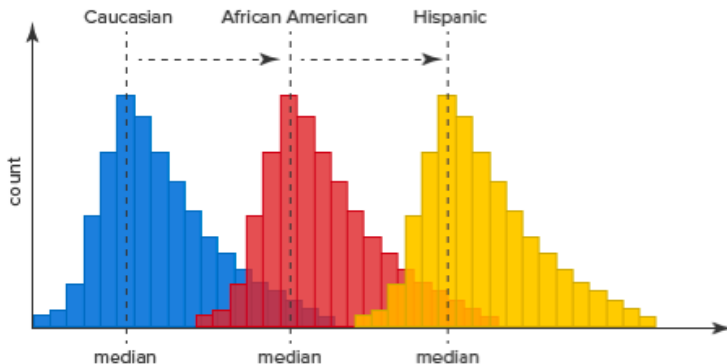
Table 3: Wilcoxon signed rank exact test: FC by Tratamiento

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
1	0.003906 * *	two.sided

PRUEBA DE KRUSKAL - WALLIS: COMPARACIÓN MÚLTIPLES MUESTRAS INDEPENDIENTES

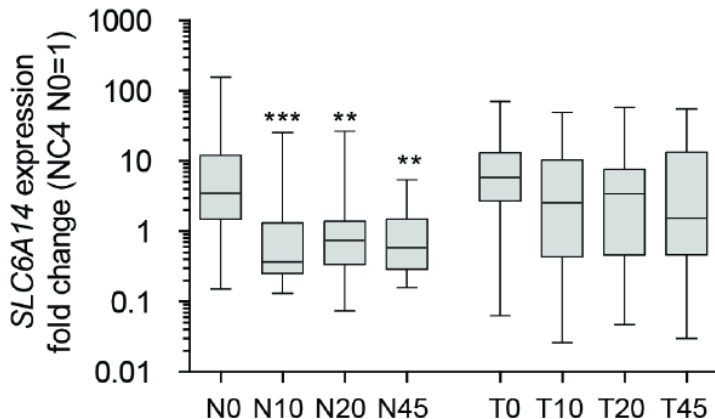
¿Para que sirve?

Para comparar múltiples muestras con idéntica distribución, con diferentes medianas y sin normalidad.



ESTUDIO DE CASO: EXPRESIÓN SLC6A14 EN RESPUESTA A ISQUEMIA.

Lange et al. 2015. Respuesta a isquemia en tejido normal (N) y tumoral (T) sometido a isquemia por 0, 10, 20 y 45 min.



PRUEBA DE KRUSKAL - WALLIS CON R

```
kruskal.test(list(N0, N10, N20, N45)) %>% pander()
```

Table 4: Kruskal-Wallis rank sum test: list(N0, N10, N20, N45)

Test statistic	df	P value
39.54	3	1.331e-08 * * *

PRUEBA DE DUNN PARA COMPARACIONES MULTIPLES

```
dunnTest(FC ~ Time,  
         data=tidy,  
         method="bonferroni")
```

##	Comparison	Z	P.unadj	P.adj
## 1	N0 - N10	5.4970805	3.861305e-08	2.316783e-07
## 2	N0 - N20	4.6903882	2.726872e-06	1.636123e-05
## 3	N10 - N20	-0.8066923	4.198438e-01	1.000000e+00
## 4	N0 - N45	5.0886287	3.606620e-07	2.163972e-06
## 5	N10 - N45	-0.4084518	6.829420e-01	1.000000e+00
## 6	N20 - N45	0.3982405	6.904529e-01	1.000000e+00

PRUEBA DE CHI CUADRADO: ASOCIACIÓN CON VARIABLES CATEGÓRICAS

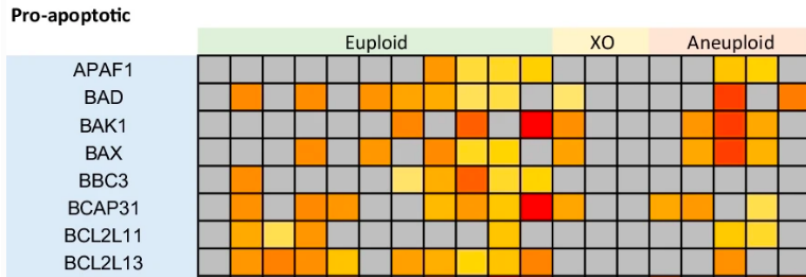
¿Para que sirve?

Se utilizan para investigar la asociación de dos o más variables categóricas una de las cuales es una variable respuesta y la otra es una variable predictora.

Tratamiento	Respuesta +	Respuesta -
Si	a	c
No	b	d

ESTUDIO DE CASO: PREDICCIÓN MOLECULAR DE EMBRIONES ANEUPLOIDES

Lal et al. 2022. Expresión del gen BCL2L13 en embriones euploides y aneuploides.



PRUEBA CHI CUADRADO

```
datos
```

```
##           Expresado No expresado
## Euploides           9           2
## Aneuploides         1           7
```

```
# Test de Chi-squared en R (chisq.test)
test<-chisq.test(datos, correct = FALSE)

test %>% pander()
```

Table 6: Pearson's Chi-squared test: datos

Test statistic	df	P value
8.927	1	0.00281 * *

PRÁCTICA ANÁLISIS DE DATOS

- ▶ Guía de trabajo práctico disponible en Rstudio.cloud.

Nonparametric Tests	Parametric Tests
Mann-Whitney U Test	Independent Samples T-test
Wilcoxon Signed Rank Test	Paired Samples T-test
Kruskal-Wallis Test	One-way ANOVA
Chi-squared Test	

FUENTE: Corporate finance institute

RESUMEN DE LA CLASE

Revisión de conceptos y práctica de estadística no paramétrica.

- ▶ Correlación de Spearman.
- ▶ Prueba de Man-Whitney.
- ▶ Prueba de Wilcoxon.
- ▶ Prueba de Kruskal Wallis + DUNN test.
- ▶ Prueba de Chi-cuadrado.