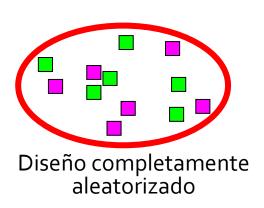
BIOMETRÍA II CLASE 9 MODELOS LINEALES CON EFECTOS ALEATORIOS

Adriana Pérez Depto de Ecología, Genética y Evolución FECN, UBA

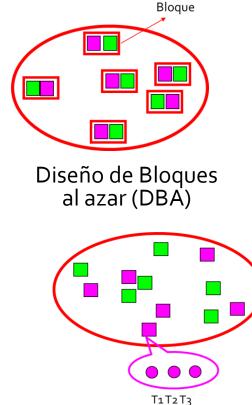
Efecto del la disponibilidad lumínica sobre la herbivoría en *Berberis buxifolia* (calafate)



2

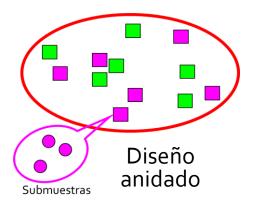


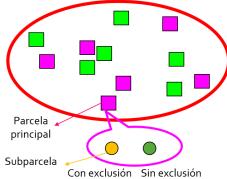
Observaciones independientes



Diseño de medidas repetidas (DMR)

Medidas repetidas





Diseño de parcela dividida (Split-plot)

Observaciones no independientes (datos agrupados)

Datos agrupados

- Observaciones no independientes. Existe algún nivel de agregación de los datos, que induce una estructura de correlación entre las observaciones
- Ignorar esa falta de independencia afecta las estimaciones de los EE de los coeficientes y por lo tanto la inferencia no es correcta
- Se soluciona declarando en el modelo esa correlación entre las observaciones

¿Cómo modelamos datos correlacionados?

- En forma implícita, mediante la adición de VE de efecto aleatorio. Se induce la correlación entre observaciones. Modelos condicionales o mixtos
- En forma explícita, mediante la imposición de una estructura de correlación entre las observaciones (matriz de covarianzas). Modelos marginales
- Con errores con distribución normal ambas aproximaciones (formas explicita e implícita) son equivalentes
- Sin embargo, con datos no normales o cuando el modelo es no lineal, los parámetros bajo estas dos estrategias son intrínsecamente diferentes y se interpretan como:
 - "parámetros promedios poblacionales" (modelos marginales): ajustan un modelo general para la estructura promedio de la población de individuos
 - "parámetros sujeto-específicos" (modelos condicionales): proporcionan un modelo para cada individuo, pero donde la forma general del modelo es la misma para cada sujeto

VE de efectos fijos

VE de efectos aleatorios

- los niveles de la VE son elegidos deliberadamente por el investigador, porque le interesa estudiar esos efectos en particular
- La inferencia se efectúa sobre esos niveles
- Los tratamientos asignados por el investigador a las UE son de efectos fijos, aunque existen factores que no son asignables aleatoriamente pero son fijos (sexo, variedad, edad, precipitaciones, etc)
- □ Ho: $\mu_i = \mu$ o $\beta_i = o$

- los niveles son elegidos al azar por el investigador de una población mayor de niveles de interés
- Las conclusiones se aplican sobre la población de niveles, no solo los estudiados
- El objetivo es modelar la falta de independencia y/o estudiar la variabilidad entre los niveles (espacial, temporal, genética, de la técnica experimental)
- Las VE de efectos aleatorios son cuali (bloques, individuos, días, líneas, etc); niveles no informativos
- Si se repite el experimento, no necesariamente se repiten los mismos niveles
- $\Box \quad \mathsf{Ho} : \sigma^2_i = 0$

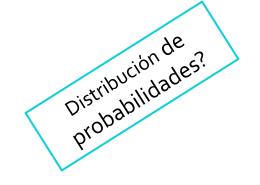
Volviendo a los ejemplos

VR: nivel de herbivoría

Diseño	VE de efectos fijos	VE de efectos aleatorios
Completamente aleatorizado		
bloques al azar		
anidado		
medidas repetidas		

Nivel de herbivoría:

- biomasa consumida
- 2. Porcentaje de hojas con signos de herbivoría
- 3. Ramoneada/no ramoneada
- 4. Cantidad de herbívoros capturados en un día



Efecto de la exposición postnatal a etanol sobre el volumen del cerebro en ratones



- La exposición temprana al etanol causa alteraciones cognitivas y conductuales persistentes
- Se desea estudiar los efectos neuroestructurales asociados a esta exposición en ratones
- Para ello se seleccionaron 6 camadas de ratones de 7 días. De cada camada se eligieron 3 ratones al azar, que fueron asignados a uno de los siguientes tratamientos:
 - a) Solución salina, b) Etanol 1 g/kg, c) Etanol 2 g/kg

A los 82 días se determinó el volumen cerebral por resonancia magnética

Experimento o estudio observacional?

VR:

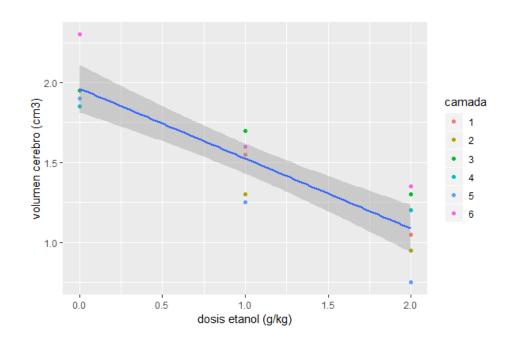
Tipo? Potencial distribución de probabilidades?

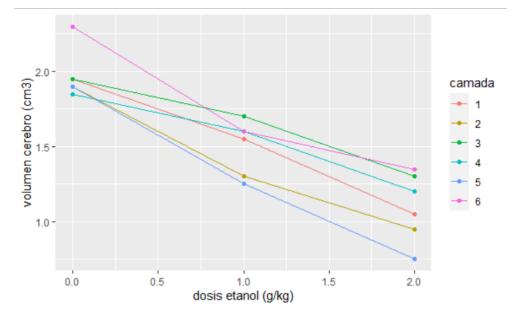
VE:

Tipo? De efectos fijos o aleatorios?

	camada 🗦	etanol ‡	vol ‡
1	1	0	1.95
2	2	0	1.90
3	3	0	1.95
4	4	0	1.85
5	5	0	1.90
6	6	0	2.30
7	1	1	1.55
8	2	1	1.30
9	3	1	1.70
10	4	1	1.60
11	5	1	1.25
12	6	1	1.60
13	1	2	1.05
14	2	2	0.95
15	3	2	1.30
16	4	2	1.20
17	5	2	0.75
18	6	2	1.35

Ratones_camada.txt





Sin considerar las camadas

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 etanol_i + \varepsilon_i$$
 $i = 1,..., 18$ m1<-lm(vol~etanol, bd)

Coefficients:

```
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 1.96250    0.06999    28.038    4.96e-15 ***
etanol    -0.43750    0.05422    -8.069    4.96e-07 ***
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 '
```

Residual standard error: 0.1878 on 16 degrees of freedom Multiple R-squared: 0.8028, Adjusted R-squared: 0.7904 F-statistic: 65.12 on 1 and 16 DF, p-value: 4.956e-07

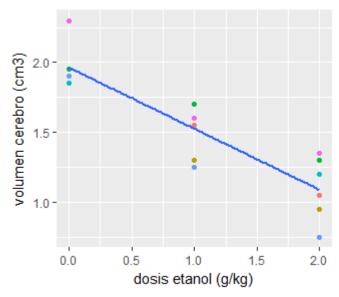


> anova(m0)

Analysis of Variance Table

Response: vol

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
etanol 1 2.29688 2.29688 65.116 4.956e-07 ***
Residuals 16 0.56437 0.03527 $\hat{\mathcal{L}}^2$



La variabilidad explicada por las camadas va a parar al error!



Incorporando las camadas como VE de efectos fijos

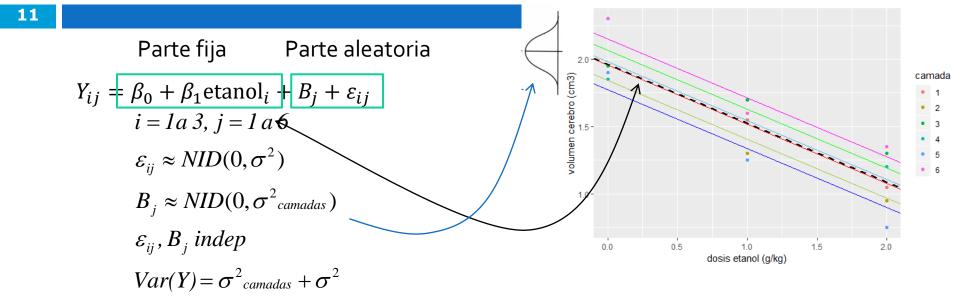
BLUE: best linear unbiased estimate. Efecto fijo de la camada

 $Y_{i} = \beta_{0} + \beta_{1}etanol_{i} + \beta_{2}C_{2i} + \beta_{3}C_{3i} + ... + \varepsilon_{i}$ m1<-lm(vol~etanol+factor(camada), ratones)</pre> Coefficients: Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)-0.437500.03387 -12.92 5.44e-08 etanol camada1 1.95417 0.07574 camada2 1.82083 0.07574 24.04 7.37e-11 camada3 2.08750 0.07574 27.56 1.68e-11 camada4 1.98750 0.07574 26.24 2.85e-11 camada5 1.73750 0.07574 22.94 1.22e-10 camada6 2.18750 -0.07574 28.88 1.01e-11 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' Signif. codes: 1.5 dosis etanol (g/kg) Residual standard error: 0.1173 on 11 degrees of freedom Multiple R-squared: 0.9966, Adjusted R-squared: 0.9945 F-statistic: 462.4 on 7 and 11 DF, p-value: 1.085e-12 ✓ Mejora la precisión > anova(m2) Analysis of Variance Table ✓ Muchos parámetros ! Response: vol para estimar Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F) ✓ Inferencia solo para 1 2.29688 2.29688 166.8157 5.444e-08 *** etanol los bloques medidos camada 5 0.41292 0.08258 5.9978 0.006458 ** Residuals 11 0.15146 0.01377 Es la forma de evaluar si hay

efecto de la camada

Modelo condicional: camadas como VE de efectos aleatorios

BLUP: best linear unbiased prediction. Efecto aleatorio de la camada



- Modelo condicional o sujeto-específico: proporciona un modelo para cada individuo, pero donde la forma general del modelo es la misma para cada sujeto. En este caso es un modelo de intercepto aleatorio, ya que la ordenada al origen es β_0+B_{ji} que cambia aleatoriamente según B_j
- La inclusión de B_j (efecto aleatorio de la camada) induce una estructura de correlación entre las observaciones de la misma camada
- La inferencia no está restringida a las 6 camadas estudiadas sino a toda la población de camadas
- Un único parámetro $\sigma^2_{camadas}$ para modelar la variabilidad entre camadas







B_i :Efecto aleatorio del nivel j de la VE Camada

(BLUP: best linear unbiased prediction) $B_{j} \approx N(0, \sigma_{camada}^{2})$ f(x) Cuanto sube o baja la ordenada al origen de la ordenada al origen

- ✓ Suponemos que existe un gran número de niveles para el factor camada y por tanto una población de efectos B_i
- ✓ B_j es una variable aleatoria, que se considera normal e independientemente distribuida, con media o y varianza σ^2_{camada}
- ✓ Se seleccionan al azar niveles con el propósito de tratarlos como una representación de la población de efectos hacia la cual se pretende inferir.
- ✓ Los B_i se predicen I (no se estiman ya que no son parámetros sino VA)
- ✓ Se estima la variabilidad aportada por las camadas σ^2_{camada}

library(lme4) m2 <- lmer(vol ~ etanol + (1 | camada), data = ratones)</pre>

- intercepto aleatorio por camada
- camada como factor

```
REML criterion at convergence: -8.8
```

Scaled residuals:

Min 1Q Median 3Q Max -1.2784 -0.8701 0.1124 0.6304 1.2784

Las estimaciones son por máxima verosimilitud restringida en lugar de máxima verosimilitud

Random effects:

Groups		Variance	
camada	(Intercept)	0.02294	0.1515
Residual		0.01377	0.1173
Number of	obs: 18, gro	ups: car	nada, 6

$$\hat{\sigma}^2$$
 camadas Varianza entre camadas $\hat{\sigma}^2$ Varianza dentro de camadas

Fixed effects:

library(lmerTest)

para obtener p-valores

de parámetros? GL residuales?

Para ver significación de los coeficientes por test de Wald puede usarse la función Anova(modelo) del paquete car

```
#También puede utilizarse la librería nlme
library(nlme)
m2b < -led lme(vol \sim etanol, random = \sim 1 | camada, data = ratones)
Linear mixed-effects model fit by REML
  Data: ratones
              BIC logLik
          AIC
   -0.8271654 2.263189 4.413583
Random effects:
  Formula: ~1 | camada
         (Intercept) Residual
                                    \hat{\sigma}_{camadas} y \hat{\sigma}
           0.1514534 0.1173411
 StdDev:
 Fixed effects: vol ~ etanol
               Value Std.Frror DF t-value p-value
 (Intercept) | 1.9625 0.07573227 | 11
                                     25.91366
             -0.4375 0.03387346 11 -12.91572
 etanol
  Correlation:
        (Intr)
                                                               Según Pinheiro y
 etanol -0.447
                                                               Bates (2000) si los GL
Standardized Within-Group Residuals:
                                                               residuales son
        Min
                    Q1
                               Med
                                           Q3
                                                      Max
 -1.2784414 -0.8700553 0.1124409 0.6303889
                                                               pequeños (<50?) los p
                                                               no son confiables
Number of Observations: 18
```

Number of Groups: 6

Estimación de los parámetros en modelos lineales mixtos

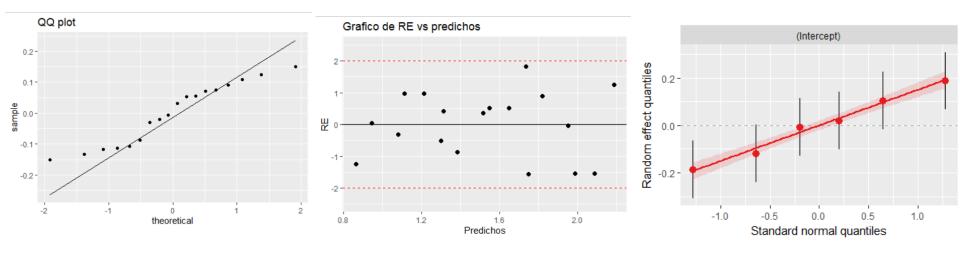
Los modelos con distribución normal y VE con efectos fijos y aleatorios se conocen como modelos lineales generales y mixtos. Dos métodos de estimación:

- Mínimos cuadrados: Si se verifica distribución normal de los errores, homocedasticidad y diseño sin desbalanceo grosero permiten modelar la falta de independencia. Pero debe indicarse cuál es el término de error para la construcción de las F, lo que lo torna un método tedioso en diseños complicados
- Máxima verosimilitud: Más versátil. Permite modelar distintas estructuras de correlación, heterocedasticidad, se bancan desbalanceo. Si n es grande, las estimaciones por MV proveen estimadores insesgados y consistentes. Sin embargo, las estimaciones de las varianzas están subestimadas (porque no corrigen por GL), por lo que en la práctica se aplica una corrección a los GL: MV restringida o REML (opción por defecto en Ime y Imer)

Supuestos

16

- Muestra aleatoria
- Linealidad para predictoras continuas
- $\varepsilon_{ij} \approx NID(0, \sigma^2); B_j \approx NID(0, \sigma^2_{camadas}); \ \varepsilon_{ij} \ y \ B_j \ independientes$ Además: ausencia de patrones en los residuos; chequeo de outliers



Shapiro-Wilk normality test data: e W = 0.92747, p-value = 0.1752 Debería probarse también normalidad con los B_i aunque son pocos valores...

Parte fija

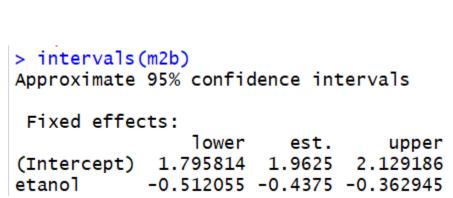
Predicciones (sin incluir efectos aleatorios)

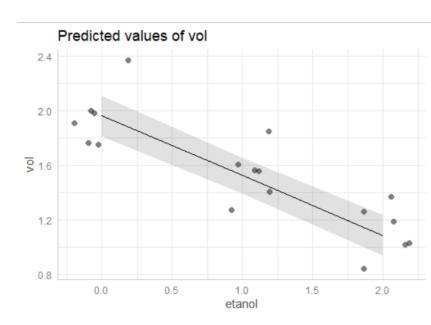
$$\hat{Y}_i = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 etanol_i$$

Fixed effects:

```
Estimate Std. Error t value (Intercept) 1.96250 0.07573 25.91 etanol -0.43750 0.03387 -12.92
```

- Interpretación de los coeficientes?
- Estimación de la respuesta media para las tres dosis de etanol?





Parte aleatoria Efectos aleatorios

<pre>ranef(m2)</pre>	B_j			
\$camada				
1 -0.0069				
2 -0.1180				
3 0.1042				
4 0.0208				
5 -0.1875				
6 0 1875				

				,	/		
				0.0	0.5 1.	0 1.5	2.0
				, 0.0	dosis eta		2.0
				,			-
	etanol	camada	vol	pred fija	efecto aleat	pred fija	+ aleat
1	0	1		1.9625	-0.0069	pred rija	1.9556
2	0	2	1.90	1.9625	-0.1180		1.8445
3	0		1.95	1.9625	0.1042		2.0667
4	0	4	1.85	1.9625	0.0208		1.9833
5	0	5	1.90	1.9625	-0.1875		1.7750
6	0	6	2.30	1.9625	0.1875		2.1500
7	1	1	1.55	1.5250	-0.0069		1.5181
8	1	2	1.30	1.5250	-0.1180		1.4070
9	1	3	1.70	1.5250	0.1042		1.6292
10	1	4	1.60	1.5250	0.0208		1.5458
11	1	5	1.25	1.5250	-0.1875		1.3375
12	1	6	1.60	1.5250	0.1875		1.7125
13	2	1	1.05	1.0875	-0.0069		1.0806
14	2	2	0.95	1.0875	-0.1180		0.9695
15	2	3	1.30	1.0875	0.1042		1.1917
16	2	4	1.20	1.0875	0.0208		1.1083
17	2	5	0.75	1.0875	-0.1875		0.9000
18	2	6	1.35	1.0875	0.1875		1.2750

volumen cerebro (cm3)

Predicciones marginales

Predicciones sujeto específicas

Parte aleatoria Efectos aleatorios (BLUPs)

 $BLUP_{j} = BLUE_{j} \left(\frac{\sigma_{camadas}^{2}}{\sigma_{camadas}^{2} + \sigma^{2} / n_{i}} \right)$

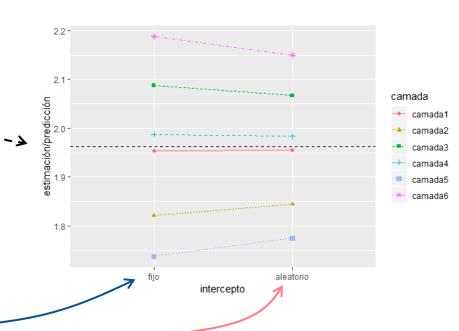
19

Fixed effects:

```
Estimate Std. Error t value
(Intercept) 1.96250 0.07573 25.91
etanol -0.43750 0.03387 -12.92
```

Los interceptos fijos y aleatorios difieren:

```
camada interc_fijo interc_aleat
           1.954167
                         1.955556
camada1
camada2
           1.820833
                         1.844453
camada3
           2.087500
                         2.066659
camada4
           1.987500
                         1.983332
camada5
           1.737500
                         1.775014
           2.187500
camada6
                         2.149986
```



y por lo tanto los efectos de las camadas:

	camada	BLUE	BLUP
B_j	camada1	-0.008333333	-0.006943935
	camada2	-0.141666667	-0.118046892
	camada3	0.125000000	0.104159022
	camada4	0.025000000	0.020831804
	camada5	-0.225000000	-0.187486240
	camada6	0.225000000	0.187486240

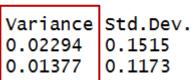
Los interceptos aleatorios están "encogidos" (shrinkage), es decir son más parecidos a la media. Es el costo de ampliar la inferencia

Parte aleatoria Componentes de varianza

 Se denomina así a cada varianza que contribuye a la varianza aleatoria de Y y mide la variabilidad aportada por cada VE con efectos aleatorios- En este caso

$$\sigma_{Y_{ij}}^2 = \sigma_{camadas}^2 + \sigma^2$$

Random effects:
Groups Name Variance
camada (Intercept)
Residual 0.01377



$$\hat{\sigma}_{Y_{ij}}^{2} = 0,02294 + 0,01377 = 0,03671$$

$$\hat{\sigma}_{Y_{ij}} = 0,19cm^{3}$$

La estructura de correlación inducida por el factor aleatorio se denomina coeficiente de correlación intraclase. Se calcula como σ_{camada}^2

como $CCI = \frac{\sigma_{camada}^{2}}{\sigma_{camada}^{2} + \sigma^{2}}$

0.07726336 0.11734111 0.17820783

 62% de la variación aleatoria (no impuesta por el tratamiento) en el volumen cerebral de los ratones está explicado por la variación entre camadas

Comparación de modelos

Prueba de devianza o cociente de verosimilitudes (LRT)

Solo para modelos anidados, con distinta estructura de la parte fija o aleatoria

$$D = -2 \ln \frac{\mathcal{L}(modelo\ 1)}{\mathcal{L}(modelo\ 2)} \sim \chi^2_{p2-p1} \qquad \qquad \begin{array}{c} \textit{donde m1 anidado en m2} \\ \textit{p1, p2 = número de parámetros de cada modelo} \end{array}$$

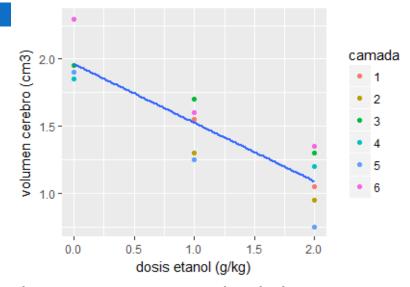
- Para comparar modelos con distinta parte fija: anova (modelo1, modelo2).
 También puede usarse el comando drop1 (modelo2)
- Para determinar la significancia del factor aleatorio ranova (modelo2)

Comparación por AIC/BIC

No se recomienda comparar AIC calculados con distintos paquetes

Modelo marginal: estructura de correlación entre observaciones de una camada

Parte fija Parte aleatoria $Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 etanol_i + \varepsilon_{ij}$ $i = 1a \ 3, \ j = 1 \ a \ 6$ $\varepsilon_{ij} \approx NID(0, \Sigma_j)$ matriz de covarianza



- Modelo marginal: ajusta un modelo general para la estructura promedio de la población de individuos
- No incluye VE de efectos aleatorios
- La estructura de correlación entre las observaciones de la misma camada está explicitada en la matriz de covarianza

```
library(nlme)
m2c \leftarrow gls(vol \sim etanol, correlation=corCompSymm(form = ~ 1|camada),
data = ratones)
                                       Estructura de correlación entre
                                       observaciones de una camada
Generalized least squares fit by REML
                                             Las estimaciones son por máxima
 Model: vol ~ etanol
                                             yerosimilitud restringida en lugar de
 Data: ratones
                                             máxima verosimilitud
         AIC
                  BIC loaLik
  -0.8271654 2.263189 4.413583
Correlation Structure: Compound symmetry
Formula: ~1 | camada
Parameter estimate(s):
     Rho
0.6248966
Coefficients:
              Value Std.Error t-value p-value
(Intercept) | 1.9625 0.07573224 | 25.91367
```

Residual standard error: 0.1915909
Degrees of freedom: 18 total; 16 residual

-0.4375 0.03387347 -12.91571

etanol

No descompone la varianza entre camadas y dentro de camadas

Modelo condicional vs modelo marginal

- Las estimaciones de la parte fija del modelo son las mismas!
- Con errores con distribución normal ambas aproximaciones son equivalentes. Es decir que postular un modelo mixto con factor aleatorio para la ordenada al origen implica ("es equivalente a") postular un modelo marginal con cierta estructura de correlación (simetría compuesta)
- Pero los modelos marginales no incluyen efectos aleatorios y por lo tanto no estiman componentes de varianza
- La interpretación no es la misma:
 - Modelo marginal: las predicciones obtenidas son para individuos promedio dadas características fijas (sexo, edad, etc)
 - Modelo condicional: las predicciones obtenidas son para individuos promedio dadas características fijas y aleatorias (sujeto-específica)

¿Cuándo tratar a una VE como de efectos aleatorios?

- Si no me interesa poner a prueba hipótesis entre los niveles de la variable
- Si no me interesa estimar magnitud del efecto
- Si quiero cuantificar la variabilidad entre los niveles de la variable
- Si es razonable suponer que los niveles analizados de la variable fueron aleatoriamente muestreados o son representativos de una población de niveles
- Si hay suficientes niveles del factor como para efectuar una estimación de confiable de la varianza de la población de los efectos (al menos 5)
- Si son los niveles del factor sólo etiquetas numéricas (no informativos)

Comentarios

- Es clave cómo se identifica a los niveles del factor aleatorio para determiner la estructura de agrupamiento. La recomendación es darle una identificación única a cada nivel
- Recordar que siempre son factores (VE categóricas)
- Es importante distinguir entre efectos aleatorios como control de la heterogeneidad del material experimental (como los bloques, incorporados al diseño experimental) y efectos aleatorios de interés (como en estudios genéticos evolutivos o en estudios ecológicos enfocados en la heterogeneidad). En el primer caso se deberían dejar en el modelo, independientemente de la cantidad de niveles y la significación. En el segundo caso podemos aplicar selección de modelos para decir si son relevantes o no
- Otra forma de lidiar con la heterocedasticidad es agregar como VE de afectos aleatorios al individuo (por más que existe una única observación)

Experimentos multiambientales

Muchas veces un experimento se conduce en varios ambientes, donde los ambientes elegidos intentan representar una población relativamente mayor de ambientes. Dentro de cada ambiente se evalúan generalmente dos o más tratamientos bajo un cierto diseño experimental con o sin repeticiones. Los modelos posibles son:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} (1)$$

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha \beta_{ij} + \varepsilon_{ij} (2)$$

- los efectos de ambiente (β_j) podrían ser considerados como fijos o aleatorios según los supuestos que se hagan respecto a los ambientes incorporados en el experimento
- El modelo (1) corresponde a un DBA sin interacción
- El modelo (2) corresponde a un modelo con interacción tratamiento x ambiente y es necesario tener réplicas para poder estimarlo. Si los efectos del ambiente son considerados aleatorios, la interacción también lo es
- Ej: interacción genotipo-ambiente