

Biometría II

1er Parcial 2022

Resuelto Tema 2_Superficie

Los valores numericos informados en este resuelto van a tener diferencias según el *Grupo* de pertenencia en el campus para el parcial

Enunciado

La hipertermia local (HTL) por nanopartículas magnéticas es un novel tratamiento antitumoral que consiste en exponer el tejido tumoral a nanopartículas magnéticas (NpM) que se adhieren al tejido tumoral y que frente a un campo magnético se convertirán en fuentes locales de calor moderado (entre 40-46°C dependiendo del campo magnético aplicado). Esto ocasiona estrés celular, desnaturalización proteica, agregación o entrecruzamiento erróneo de las hebras de ADN y finalmente muerte de las células tumorales. Se llevó a cabo un estudio a fin de analizar la efectividad de HTL por nanopartículas sintetizadas con dos materiales (hierro y magnetita) para frenar el desarrollo tumoral. Además se desea conocer si la efectividad de las nanopartículas varía según la frecuencia del campo magnético al que se expone el tejido tumoral. Para ello llevan a cabo un ensayo in vitro en el cual se cultivan células de la línea CC531 (adenocarcinoma de colon) en placas, conteniendo 3 pocillos cada una. Se cuenta con un total de 40 placas a las que se les asigna en forma aleatoria a una de las dos tipos de nanopartículas y una de las cuatro frecuencias de campo magnético (0, 5, 10 y 15 kA/m). Al cabo de 18 días se determina la superficie de cada tumor de cada pocillo (en mm²). Datos en el archivo superficie3.txt.

En base al enunciado (INTERCALE LAS RESPUESTAS LUEGO DE CADA PREGUNTA),

Pregunta 1

1 a) Identifique las variables explicativas (tipo y condición de fijas o aleatorias, cruzadas (con) o anidadas (en)), el diseño y la cantidad de réplicas.

-variables explicativas: 1) Material: cualitativa fija, cruzada con frecuencia 2) frecuencia : cuantitativa, fija, cruzada con material 3) placa: aleatoria, anidada en la interacción frecuencia* material

5 réplicas por tratamiento Se trata de un diseño ANIDADO

1 b) Escriba el modelo en parámetros, indicando el significado de cada término en contexto (para las letras griegas utilice palabras). Si piensa que alguna/s variables podrían ser incluida/s de diferente manera, elija aquella que resulte en un modelo con menor cantidad de parámetros.

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 * \text{Material magnetita}_i + \beta_2 * \text{frecuencia}_i + \beta_3 * \text{material Magnetita} * \text{frecuencia}_i + B_i + \epsilon_{ij}$$

$$i = 1 : 40, \quad j = 1 : 3$$

$$B_i \sim NID(0, \sigma_{placas}^2)$$

$$\epsilon_{ij} \sim NID(0, \sigma^2)$$

Interpretación de los términos del modelo

- Y_{ij} : superficie del j-esimo pocillo de la i-esima placa

- Beta0: Es el valor de la superficie media del tumor para Magnetita y valor de frecuencia 0 kA/m, para una placa típica
- Beta1: Es la diferencia media en la superficie tumoral entre hierro y magnetita cuando la frecuencia es 0 kA/m
- Beta2: Es el cambio en la superficie media del tumor por cambio unitario de frecuencia del campo magnético para magnetita
- Beta 3: Es la diferencia en el cambio en la superficie media del tumor por cambio unitario de frecuencia del campo magnético entre hierro y magnetita (diferencia de pendientes)
- Bj: Efecto aleatorio de la placa
- Eij: error aleatorio, diferencia entre la superficie de los tumores entre pocillos de una misma placa

Trabajo previo en R

- Cargamos las librerías
- Carga de datos
- Inspección del data.frame

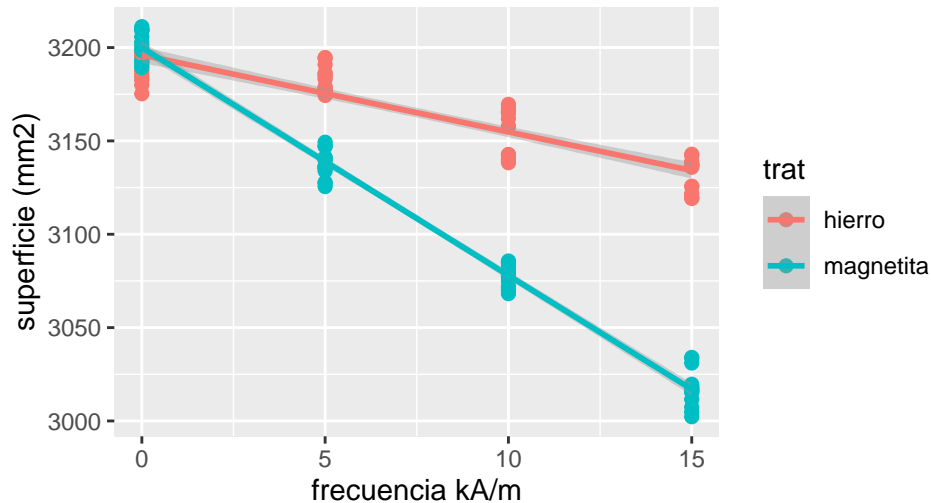
Pregunta 2

Realice un gráfico descriptivo en donde se muestre la relación entre la superficie del tumor y la frecuencia de campo magnético aplicada, discriminando por tratamiento. Escriba una frase describiendo dicha relación.

```
q<-ggplot(Datos, aes(x =frecuencia , y = superficie, colour =trat)) +
  geom_point(aes(), size=2) +
  xlab("frecuencia kA/m") +
  ylab("superficie (mm2)") +
  ggtitle("Superficie tumoral en funcion de la frecuencia")+
  geom_smooth(method = "lm")
q
```

```
## 'geom_smooth()' using formula 'y ~ x'
```

Superficie tumoral en funcion de la frecuencia



En el grafico se observa, para la muestra, a mayor frecuencia del campo magnético la superficie del tumor decrece (relacion inversa), y esta relacion parece no ser igual para ambos tratamientos sino que decrece mas rapidamente para el tratamiento magnetita, esperando posiblemente encontrar pendientes diferentes (interaccion significativa).

Pregunta 3

Ajuste el modelo propuesto en 1 b). ¿Cuáles y cuántos parámetros deben estimarse?

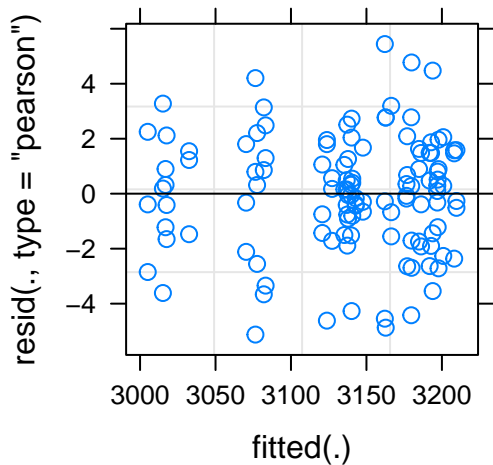
```
# MODELO CONDICIONAL
# Para implementar el modelo, utilizar la libreria lme4 (o nlme)
m1 <- lmer(superficie ~ trat*frecuencia + (1|placa), Datos)
```

Se deben estimar **6 PARÁMETROS**: 4 coeficientes fijos, correspondientes a 2 ordenadas y 2 pendientes, y 2 varianzas (la del factor aleatorio y la del error)

Pregunta 4

4 a) Realice un gráfico de residuos del modelo vs valores predichos. En base al patrón observado, ¿qué supuestos evalúa y qué concluye?

```
#### Grafico res vs predichos
plot(m1)
```



En base al gráfico de residuos vs valores predichos se evalúan los supuestos de **homocedasticidad** y **linealidad**

En relación al primer supuesto, No hay evidencia de heterocedasticidad, observando que la dispersión de los residuos **alrededor del cero** es más o menos constante en el gráfico de residuos de Pearson vs valores ajustados, por lo tanto no modelaría varianza.

Respecto al supuesto de linealidad, No se rechaza el supuesto de linealidad porque en el gráfico de residuos vs predichos los residuos parecen estar distribuidos al azar (no presentan patrón que indique otro tipo de relación no lineal).

4 b) Efectúe la/s pruebas de normalidad que considere pertinente/s. ¿Qué concluye? (sea preciso/a en sus conclusiones).

Se deben realizar **dos pruebas de normalidad**. En base a estas pruebas se concluye: - que no hay evidencia para rechazar que los errores se ajustan a una distribución normal (con media cero y varianza σ^2) (p-value = 0.41) - que no hay evidencia para rechazar que los efectos aleatorios siguen una distribución normal (con media 0 y varianza entre ratones) (p-value = 0.38)

```
#### Normalidad

#### de los errores
e <- resid(m1)

# Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk test of normality)
shapiro.test(e)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  e
## W = 0.9885, p-value = 0.4106
```

```
# b) de los alfa_i
alfai <- ranef(m1)$placa$'(Intercept)'
```

```
# Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk test of normality)
shapiro.test(alfai)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  alfai
## W = 0.97089, p-value = 0.3839
```

Pregunta 5

Analice el modelo ajustado e indique si las siguientes afirmaciones son V o F, justificando su decisión en base a resultados estadísticos. Indique de qué salida obtuvo dicho resultado.

- a) El efecto del amterial sobre la superficie del tumor depende del nivel de dosis del TEQ ($p < 0.05$) **V o F**
- b) No existe efecto del material sobre la superficie del tumor ($p > 0.05$) **V o F**

El ítem a) es **VERDADERO**, ya que esta afirmación corresponde a la hipótesis de interacción. En base al análisis de la salida de anova(m1), el término de interacción resultó significativo ($p \text{ valor } \text{trat:frecuencia} < 2e-16$).

El ítem b) es **FALSO** porque dado que la interacción resultó significativa, el efecto del tratamiento *depende* del nivel de dosis de frecuencia aplicada.

```
anova(m1)

## Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
##               Sum Sq Mean Sq NumDF DenDF    F value Pr(>F)
## trat                4.4      4.4      1    36    0.6788 0.4154
## frecuencia          6762.6  6762.6      1    36 1039.2023 <2e-16 ***
## trat:frecuencia 1653.4  1653.4      1    36  254.0693 <2e-16 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Pregunta 6

Interprete el coeficiente estimado para TratamientoMagnetita*Frecuencia (con un IC95%)

Dos opciones, pueden pedir un confint(m1) o hacerlo con el emtrends:

```
confint(m1)

## Computing profile confidence intervals ...

##               2.5 %      97.5 %
## .sig01          6.766490  10.659165
## .sigma          2.201496   3.003748
## (Intercept)    3189.692404 3202.457330
## tratmagnetita   -5.122166  12.930166
## frecuencia      -4.809941  -3.445313
## tratmagnetita:frecuencia -9.039071  -7.109196

comp_pendientes <- emtrends(m1, pairwise ~ trat, var="frecuencia")
comp_pendientes

## $emtrends
##   trat      frecuencia.trend    SE df lower.CL upper.CL
## hierro          -4.13 0.358 36    -4.85    -3.4
## magnetita        -12.20 0.358 36   -12.93   -11.5
##
## Degrees-of-freedom method: kenward-roger
## Confidence level used: 0.95
##
## $contrasts
##   contrast      estimate    SE df lower.CL upper.CL t.ratio p.value
## hierro - magnetita     8.07 0.507 36     7.05     9.1 15.940 <.0001
##
## Degrees-of-freedom method: kenward-roger
## Confidence level used: 0.95
```

Interpretación del coeficiente: La reducción en la superficie media del tumor por cada aumento unitario de la frecuencia del campo magnético para el tratamiento Magnetita es entre 7,1 y 9,03 mm²/kA/m mayor respecto a la reducción cuando el tratamiento es Hierro.

Pregunta 7

A partir del modelo ajustado, ¿puede predecir la superficie media que tendrá un tumor sometido al tratamiento HTL con nanopartículas sintetizadas con magnetita y expuesto a una frecuencia de 13kA/m de campo magnético? En caso de que se pueda, estimar dicho valor, en caso de no ser posible, justifique indicando la razón

Sí, es posible porque 13 kA/m está dentro del rango de frecuencias estudiada. Se puede calcular extrayendo los coeficientes del summary(m1). También pueden usar la función predict(m1), indicando todos los argumentos que se les pide.

```
Y=(3196.0749 +3.9040 )+(-4.1276 +(-8.0741))*13
Y
```

```
## [1] 3041.357
```

Se estima que la superficie media del tumor cuando se utiliza magnetita y una frecuencia de 13 kA/m es de **3041.357 mm²**

Pregunta 8

Informe e interprete el IC 95% para la magnitud del máximo efecto entre materiales de síntesis.

Entre materiales se observa el máximo efecto a la mayor frecuencia de campo magnético aplicada (15 kA/m).

Para responder este punto se puede elegir entre dos opciones: utilizar emmeans, seteando la opción que devuelva la comparación para el máximo valor de frecuencia (usando el argumento cov.reduce=range o = max) o bien centrar la variable frecuencia en el máximo y comparar ahí las ordenadas al origen (confint de los coeficientes del modelo).

```
Config_en_frec_min_max <- emmeans(m1, pairwise~ trat:frecuencia, cov.reduce = range) # max y min
Config_en_frec_min_max
```

```
## $emmeans
##   trat      frecuencia emmean   SE df lower.CL upper.CL
##   hierro          0    3196 3.35 36     3189     3203
##   magnetita        0    3200 3.35 36     3193     3207
##   hierro          15    3134 3.35 36     3127     3141
##   magnetita        15    3017 3.35 36     3010     3024
##
## Degrees-of-freedom method: kenward-roger
## Confidence level used: 0.95
##
## $contrasts
##   contrast                                     estimate   SE df lower.CL
##   hierro frecuencia0 - magnetita frecuencia0      -3.9 4.74 36    -16.7
##   hierro frecuencia0 - hierro frecuencia15        61.9 5.37 36     47.4
##   hierro frecuencia0 - magnetita frecuencia15     179.1 4.74 36    166.4
##   magnetita frecuencia0 - hierro frecuencia15      65.8 4.74 36     53.1
##   magnetita frecuencia0 - magnetita frecuencia15  183.0 5.37 36    168.6
##   hierro frecuencia15 - magnetita frecuencia15    117.2 4.74 36    104.4
##   upper.CL t.ratio p.value
##      8.86  -0.824  0.8428
##     76.38 11.524 <.0001
##    191.88 37.803 <.0001
##     78.58 13.891 <.0001
##    197.50 34.066 <.0001
```

```
##      129.97  24.736  <.0001
##
## Degrees-of-freedom method: kenward-roger
## Confidence level used: 0.95
## Conf-level adjustment: tukey method for comparing a family of 4 estimates
## P value adjustment: tukey method for comparing a family of 4 estimates
```

```
Config_en_frec_max <- emmeans(m1, pairwise~ trat:frecuencia, cov.reduce = max) # solo max
Config_en_frec_max
```

```
## $emmeans
##      trat      frecuencia emmean    SE df lower.CL upper.CL
## hierro      15      3134 3.35 36      3127      3141
## magnetita    15      3017 3.35 36      3010      3024
##
## Degrees-of-freedom method: kenward-roger
## Confidence level used: 0.95
##
## $contrasts
##      contrast              estimate    SE df lower.CL
## hierro frecuencia15 - magnetita frecuencia15      117 4.74 36      108
## upper.CL t.ratio p.value
##      127  24.736  <.0001
##
## Degrees-of-freedom method: kenward-roger
## Confidence level used: 0.95
```

- Centrando en el max:

```
Datos$frecuenciaC <- Datos$frecuencia - max(Datos$frecuencia)
summary(Datos$frecuenciaC)
```

```
##      Min. 1st Qu.  Median      Mean 3rd Qu.      Max.
## -15.00 -11.25   -7.50   -7.50   -3.75     0.00
```

```
m1C <- lmer(superficie ~ trat*frecuenciaC + (1|placa), Datos)
summary(m1C)
```

```
## Linear mixed model fit by REML. t-tests use Satterthwaite's method [
## lmerModLmerTest]
## Formula: superficie ~ trat * frecuenciaC + (1 | placa)
##      Data: Datos
##
## REML criterion at convergence: 699.7
##
## Scaled residuals:
##      Min      1Q   Median      3Q      Max
## -2.00932 -0.56860  0.06487  0.58120  2.13334
##
## Random effects:
##      Groups      Name      Variance Std.Dev.
## placa      (Intercept) 78.015    8.833
## Residual              6.508    2.551
## Number of obs: 120, groups: placa, 40
##
## Fixed effects:
```

```
##               Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
## (Intercept)      3134.1605      3.3505    36.0000   935.43 < 2e-16 ***
## tratmagnetita     -117.2080      4.7383    36.0000  -24.74 < 2e-16 ***
## frecuenciaC       -4.1276      0.3582    36.0000  -11.52 1.23e-13 ***
## tratmagnetita:frecuenciaC  -8.0741      0.5065    36.0000  -15.94 < 2e-16 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Correlation of Fixed Effects:
##      (Intr) trtmgn frncnC
## tratmagnettt -0.707
## frecuenciaC  0.802 -0.567
## trtmgnttt:fC -0.567  0.802 -0.707
```

```
confint(m1C)
```

```
## Computing profile confidence intervals ...
```

```
##               2.5 %      97.5 %
## .sig01          6.766490    10.659165
## .sigma          2.201496     3.003748
## (Intercept)     3127.778004  3140.542930
## tratmagnetita    -126.234166 -108.181834
## frecuenciaC      -4.809941   -3.445313
## tratmagnetita:frecuenciaC  -9.039071   -7.109196
```

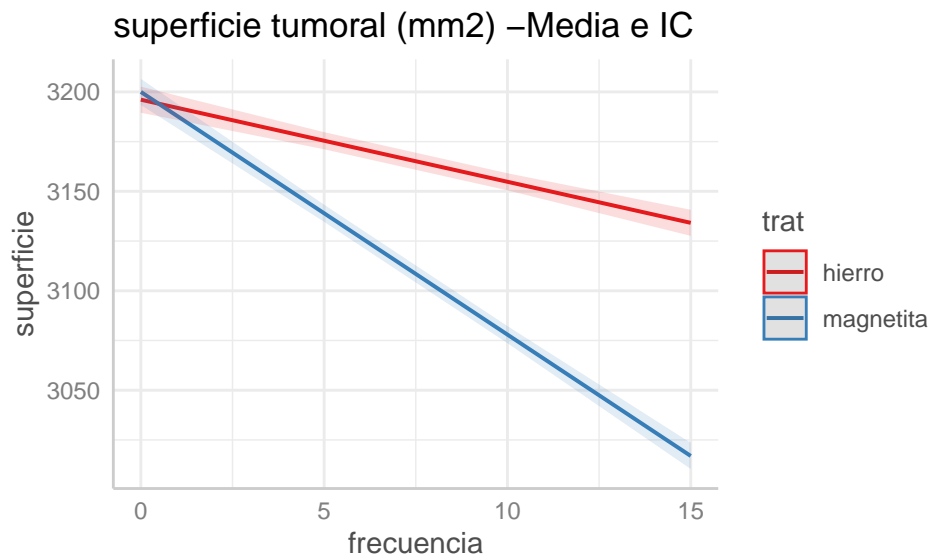
Interpretacion de la magnitud del máximo efecto entre materiales (frec 15 KA/m):

Para una frecuencia de 15 kA/m la superficie media de un tumor sometido al tratamiento Magnetita es entre 108 y 126 mm² menor respecto a un tumor sometido al tratamiento Hierro con una confianza del 95%, para una placa típica.

Pregunta 9

Presente un gráfico con los principales resultados del ensayo acompañado de un párrafo con las conclusiones que se desprenden de dichos resultados. Efectúe recomendaciones sobre HTL.

```
a<-ggpredict(m1, terms = c("frecuencia","trat")
)
p <- plot(a, add.data = F, grid = F)
p + ggtitle("superficie tumoral (mm2) -Media e IC")
```



Los principales resultados de este estudio indicaron que la superficie media del tumor se reduce con la frecuencia del campo magnético aplicada y que esta reducción depende del material de síntesis de las nanopartículas (interacción significativa). Se detectó una mayor efectividad en la reducción del tumor en el uso de Magnetita comparada con Hierro, para dosis entre 0 y 15 kA/m. La recomendación que se desprende del estudio es aplicar 15 kA/m de frecuencia de campo magnético y el material magnetita, ya que es donde se espera obtener la menor superficie de tumor a los 18 días de aplicada la experiencia, con una diferencia promedio de entre 108 y 126 mm² respecto al Hierro (con una confianza del 95%).

Pregunta 10

Completar el siguiente párrafo:

Al estimar el modelo se obtuvieron (completar con valor numérico) **40** efectos aleatorios. El estimador de la varianza de los efectos aleatorios es de (completar con valor numérico) **78.015** y sus unidades son (completar o poner una “x” si no tiene unidades) **mm²**. El CCI es de (completar con valor numérico) **0.92** y su interpretación, en contexto, es **El 92% de la variabilidad aleatoria de la superficie de los tumores se debe a diferencias entre placas de un mismo tratamiento (combinación material- frecuencia)**. Se concluye que hay (mucha/poca) **poca** variabilidad en el volumen de tumores de una misma (completar) **placa**.

Código necesario para extraer los valores de varianza e ICC (una opción):

```
summary(m1)

## Linear mixed model fit by REML. t-tests use Satterthwaite's method [
## lmerModLmerTest]
## Formula: superficie ~ trat * frecuencia + (1 | placa)
## Data: Datos
##
## REML criterion at convergence: 699.7
##
## Scaled residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -2.00932 -0.56860  0.06487  0.58120  2.13334
##
## Random effects:
## Groups   Name      Variance Std.Dev.
## placa    (Intercept) 78.015   8.833
## Residual                6.508   2.551
## Number of obs: 120, groups: placa, 40
##
## Fixed effects:
##              Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
## (Intercept)    3196.0749     3.3505  36.0000  953.911 < 2e-16 ***
## tratmagnetita     3.9040     4.7383  36.0000    0.824  0.415
## frecuencia     -4.1276     0.3582  36.0000 -11.524 1.23e-13 ***
## tratmagnetita:frecuencia -8.0741     0.5065  36.0000 -15.940 < 2e-16 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Correlation of Fixed Effects:
##      (Intr) trtmgn frecnc
## tratmagnettt -0.707
## frecuencia -0.802  0.567
## trtmgntt:fr  0.567 -0.802 -0.707
```