

Øvelser til basalkursus, 5. uge

Opgavebesvarelse: Knogledensitet hos unge piger

I alt 112 piger har fået målt knogledensitet (bone mineral density, `bmd`) i 11-års alderen (baseline værdi). Pigerne er herefter randomiseret til enten at få et calciumtilskud eller en placebopille. Efter ca. 2 år er de fleste genundersøgt, og `bmd` er målt igen.

Data indeholder 112 linier (foruden en overskriftsline), med angivelse af en personidentifikation (`id`), behandlingsgruppe (`treat`, angivet som enten `C` for calciumtilskud eller `P` for placebo), det eksakte antal dage, der er imellem de to målinger (`age`), samt bone mineral density ved hhv. 1. og 2. måling (`bmd1` hhv. `bmd5`).

Målingerne af knogledensitet (`bmd`) har enheden $\frac{g}{cm^2}$. De stammer fra nedenstående reference, men er let modificerede.

Opgaven går ud på at vurdere effekten af calciumtilskuddet på fornuftig vis, og kandidaterne er nedenstående sammenligninger af de to grupper:

- Follow-up målingerne efter 2 år (spm. 3), med korrektion for forskelle i baseline (spm.4)
- Ædringerne fra start til slut (spm. 6) med korrektion for forskelle i baseline (spm.7)

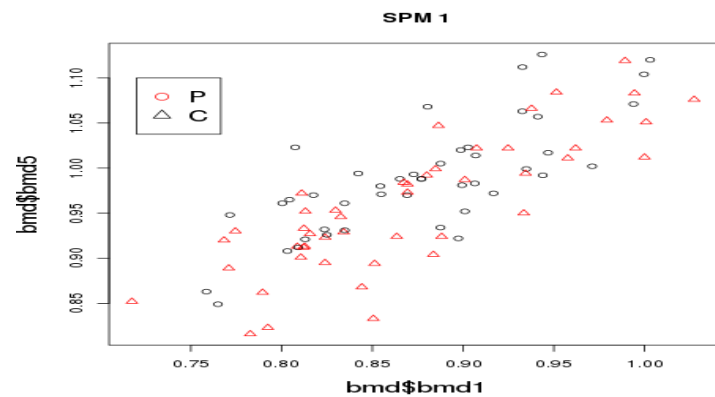
Først skal vi læse data ind, og da der er missing values, angivet med punktum, i `bmd5`, benytter vi option `na.strings=c(". ")` i koden nedenfor. Her kunne vi have haft flere forskellige angivelser af, hvad der skulle opfattes som missing. Hvis ikke dette angives, vil R opfatte variabelen som en faktor, hvilket vil give anledning til adskillige fejlmeddelelser i det efterfølgende.

```
bmd <-  
read.table("http://publicifsv.sund.ku.dk/~lts/basal/data/calcium_modi.txt",  
header=T,na.strings=c(". "))
```

1. *Lav en (eller flere) passende illustrationer/arbejdstegninger for at få en fornemmelse af data. Bemærk, at der er mange muligheder her, men prøv jer lidt frem uden at bruge alt for meget tid på det.*

En oplagt mulighed er et simpelt scatterplot af 2. måling mod 1. måling, gerne med forskellige symboler for grupperne:

```
plot(bmd$bmd1, bmd$bmd5, main="SPM 1", pch=as.numeric(bmd$treat),
     col=as.numeric(bmd$treat), cex.lab=1.5)
legend(0.72, 1.1, legend=c("P", "C"), pch=1:2,
      col=c("red", "black"), cex=1.5)
```

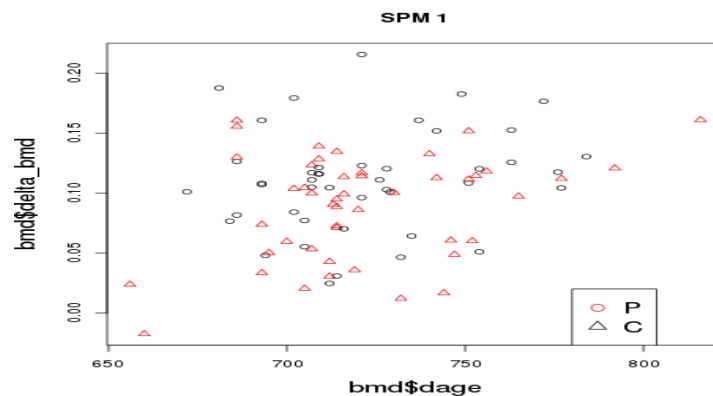


Her ses (som forventet) en oplagt sammenhæng mellem de to målinger, med en tendens til, at de sorte punkter (gruppe C) ligger øverst, svarende til, at Calcium virker efter hensigten.

Hvis dagene skal med på tegningen, kan vi i stedet afbilde tilvæksten i bmd ($\text{delta_bmd} = \text{bmd5} - \text{bmd1}$) overfor tidsintervallet (*dage*), igen med symboler svarende til de to grupper:

```
bmd$delta_bmd = bmd$bmd5 - bmd$bmd1

plot(bmd$dage, bmd$delta_bmd, main="SPM 1", pch=as.numeric(bmd$treat),
     col=as.numeric(bmd$treat), cex.lab=1.5)
legend(780, 0.02, legend=c("P", "C"), pch=1:2,
      col=c("red", "black"), cex=1.5)
```



Her ses ingen oplagt sammenhæng, men *hvis* der er nogen, er den (som forventet) positiv.

2. *Udregn summary statistics (gennemsnit, spredning og andre relevante størrelser), opdelt på de to grupper.
Ser det ud som om randomiseringen har været korrekt udført?*

Da vi om lidt vil lave summary af hele data framen, sletter vi lige den unødvendige kolonne med nummerering af pigerne:

```
bmd$id = NULL
```

Dernæst opdeler vi i to data frames efter behandling, og laver et summary af hver af dem:

```
bmd.P = bmd[bmd$treat=="P",]
bmd.C = bmd[bmd$treat=="C",]
```

```
summary(bmd.P)
summary(bmd.C)
```

hvorved vi får:

```
> summary(bmd.P)
  treat    dage      bmd1      bmd5  delta_bmd
C: 0   Min.   :656.0   Min.   :0.7175   Min.   :0.8160   Min.   :-0.01753
P:57   1st Qu.:706.0   1st Qu.:0.8131   1st Qu.:0.9125   1st Qu.: 0.05646
      Median :714.0   Median :0.8673   Median :0.9500   Median : 0.09904
```

```

      Mean :721.7   Mean :0.8718   Mean :0.9582   Mean : 0.08855
      3rd Qu.:743.0   3rd Qu.:0.9174   3rd Qu.:1.0115   3rd Qu.: 0.11740
      Max. :816.0   Max. :1.0319   Max. :1.1190   Max. : 0.16094
      NA's :10      NA's :10      NA's :10
>
> summary(bmd.C)
      treat      dage      bmd1      bmd5      delta_bmd
C:55   Min.    :672.0   Min.    :0.7530   Min.    :0.8490   Min.    :0.02461
P: 0    1st Qu.:704.2   1st Qu.:0.8243   1st Qu.:0.9510   1st Qu.:0.08346
      Median :715.0   Median :0.8770   Median :0.9855   Median :0.10967
      Mean   :721.8   Mean   :0.8763   Mean   :0.9882   Mean   :0.11068
      3rd Qu.:738.2   3rd Qu.:0.9118   3rd Qu.:1.0177   3rd Qu.:0.12576
      Max.   :784.0   Max.   :1.0219   Max.   :1.1260   Max.   :0.21552
      NA's   :11      NA's   :11      NA's   :11

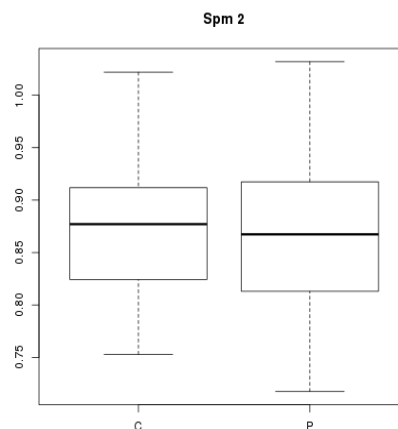
```

Vi ser her, at Calcium-gruppen starter lidt højere end Placebo-gruppen (bmd1), slutter en del højere (bmd5), og at antallet af dage mellem de to målinger er ret ens i de to grupper.

Men summa summarum mht dette spørgsmål er, at udgangspunktet bmd1 ser rimeligt ens ud i de to grupper, sådan som det burde gøre. Man **burde ikke** teste, om der er samme middelværdi, da man **ved**, at dette er tilfældet på grund af randomiseringen. Men vi kan da i hvert fald se på et Box plot:

```
boxplot(bmd1~treat, data=bmd, main="Spm 2")
```

som giver figuren



og hvis vi *alligevel* tester, om middelværdierne er ens, får vi heldigvis heller ikke nogen forkastelse:

```
t.test(bmd1~treat,data=bmd)
```

der giver

```
> t.test(bmd1~treat,data=bmd)

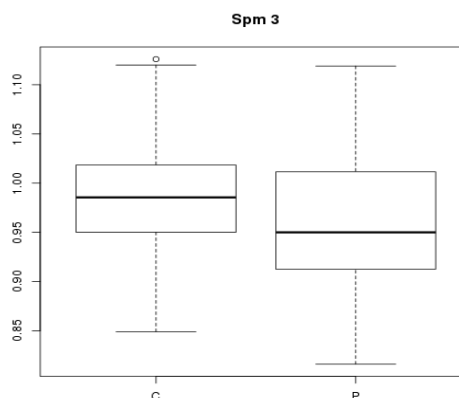
Welch Two Sample t-test

data:  bmd1 by treat
t = 0.34217, df = 109.72, p-value = 0.7329
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.02157487  0.03057942
sample estimates:
mean in group C mean in group P
    0.8763373      0.8718351
```

3. *Gør behandlingen en forskel for slutmålingerne?*
Er det fornuftigt at foretage denne sammenligning uden at tage hensyn til baseline værdierne?

Her ser vi bort fra de små forskelle, der var i baseline målingerne og sammenligner blot follow-up målingerne foretaget efter 2 år. Denne sammenligning er tilladt og fornuftig, da der er tale om et randomiseret studie. Det betyder dog ikke, at det er den *eneste* måde, man kan sammenligne grupperne på, og det er heller ikke nødvendigvis den bedste. Der er jo tale om et forholdsvis lille studie...

Først checker vi løseligt forudsætningerne for et T-test ved at se på et Box plot:



Og derefter foretager vi T-testet

```
> t.test(bmd5~treat,data=bmd)

Welch Two Sample t-test

data:  bmd5 by treat
t = 2.089, df = 88.272, p-value = 0.03959
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.001457637 0.058392460
sample estimates:
mean in group C mean in group P
      0.9881591      0.9582340
```

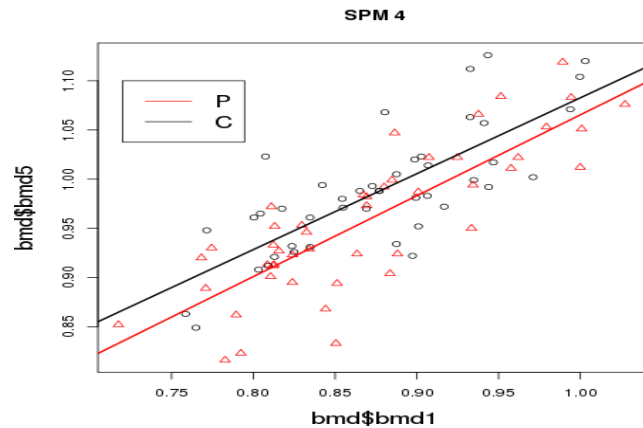
Vi ser, at der er en signifikant forskel på grupperne ved follow-up ($P=0.04$). Forskellen er i Calcium gruppens favør, og estimeres til $0.9881591 - 0.9582340 = 0.0299$, med et 95% konfidensinterval på $(0.0015, 0.0584)$.

Men noget af denne forskel var jo allerede til stede ved starten af undersøgelsen, så måske skulle man tage hensyn til det? Det gør vi nedenfor.

4. *Inkluder nu baseline værdierne som kovariat i sammenligningen fra spørgsmål 3:*

Den lille forskel i baseline værdier kan bevirke, at **bmd5**-sammenligningen er lidt urimelig. Det vi gerne vil er jo at sammenligne to individer, der starter fra samme udgangspunkt, men som får forskellige behandlinger. Dette kunne illustreres ved forskellen på de to linier nedenfor, idet disse er regressionslinier af **bmd5** mod udgangsværdien **bmd1**.

```
plot(bmd$bmd1, bmd$bmd5, main="SPM 4", pch=as.numeric(bmd$treat),
+ col=as.numeric(bmd$treat), cex.lab=1.5)
model.P = lm(bmd5 ~ bmd1, data=bmd.P)
abline(model.P, col="red", lwd=2)
model.C = lm(bmd5 ~ bmd1, data=bmd.C)
abline(model.C, col="black", lwd=2)
legend(0.72, 1.1, legend=c("P", "C"),
      col=c("red", "black"), lty=1, cex=1.5)
```



Hvis disse to linier havde været helt parallelle, ville de svare til kovariansanalysemodellen nedenfor (en additiv model med to kovariater, uden interaktion).

```
model1 = lm(bmd5 ~ bmd1 + factor(treat), data=bmd)
summary(model1)
confint(model1)
```

som giver outputtet

```
> summary(model1)

Call:
lm(formula = bmd5 ~ bmd1 + factor(treat), data = bmd)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.109882 -0.025623  0.002242  0.026172  0.090954

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)   0.284814   0.055786   5.105 1.89e-06 ***
bmd1          0.801550   0.063183  12.686 < 2e-16 ***
factor(treat)P -0.023677   0.008624  -2.745  0.00733 **
---
Residual standard error: 0.04105 on 88 degrees of freedom
(21 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.6629, Adjusted R-squared:  0.6552
F-statistic: 86.51 on 2 and 88 DF,  p-value: < 2.2e-16

> confint(model1)
              2.5 %      97.5 %
(Intercept)  0.17395144  0.395676434
bmd1         0.67598756  0.927111498
factor(treat)P -0.04081654 -0.006538004
```

- (a) *Hvilken knogledensitet vil vi prediktere en pige fra C-gruppen til at have i 13-års alderen (bmd5), hvis hun har en densitet på $0.9 \frac{g}{cm^2}$ i 11-års alderen (bmd1)?*
Vil det være usædvanligt, hvis hun er nået helt op på $1.1 \frac{g}{cm^2}$?

For at besvare dette spørgsmål, må vi lave en ny data frame med den ønskede kombination af kovariater, og derefter benytte denne til at prediktere ud fra vores model:

```
bmd09 <- data.frame(bmd1=0.9,treat="C")
predict(model1, newdata=bmd09, interval="confidence")
```

Herved får vi outputtet

```
> bmd09 <- data.frame(bmd1=0.9,treat="C")
> predict(model1, newdata=bmd09, interval="confidence")
      fit      lwr      upr
1 1.006209 0.9935903 1.018827
```

og den forventede værdi for en C-pige er altså 1.006, med konfidensgrænser (0.994, 1.019).

Når man skal svare på, om det er usædvanligt for en pige at nå helt op på et bmd på $1.1 \frac{g}{cm^2}$, er det imidlertid *ikke* konfidensgrænserne, vi skal bruge, men derimod prediktionsgrænserne. Disse fås ved at lægge $\pm 2s$ til estimatet, og da vores spredningsestimat (**Residual standard error**) er $s = 0.041$, finder vi prediktionsintervallet

$$1.006 \pm 2 \times 0.041 = (0.924, 1.088)$$

Vi kan også bede R om at udregne dem direkte:

```
> predict(model1, newdata=bmd09, interval="prediction")
      fit      lwr      upr
1 1.006209 0.923667 1.08875
```

Da dette interval *ikke* inkluderer $1.1 \frac{g}{cm^2}$, må vi konkludere, at dette ville være en smule usædvanligt.

- (b) *Kvantificer den forventede forskel på de to grupper i knogledensitet ved 13-års alderen, under forudsætning af, at disse starter fra samme udgangspunktet (bmd1=0.9).*

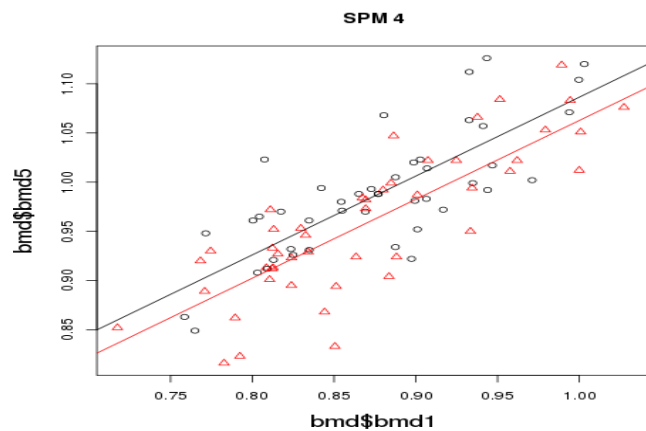
Dette er lidt af et trick-spørgsmål, idet det konkrete udgangspunkt er ligegyldigt, når man arbejder med en model uden interaktion. Her er linierne jo parallelle (se figuren nedenfor) og har dermed samme afstand, uanset hvad kovariaten (her **bmd1**) måtte være, og lig med den lodrette afstand mellem linierne, altså netop estimatet for **treat**.

Fra ovenstående output ses således, at der stadig er en signifikant forskel på grupperne ved follow-up, og at P-værdien er blevet en del mindre ($P=0.007$ mod før 0.04). Forskellen er stadig i Calcium gruppens favør, og estimeres nu til lidt mindre, nemlig 0.0237 , med et 95% konfidensinterval på $(0.0065, 0.0408)$. Sammenligner vi med intervallet fra spm. 3, ser vi, at det nu er blevet en del smallere. Vi har altså vundet styrke ved at inddrage baseline værdien i modellen (fordi vi har nedbragt den uforklarede biologiske variation ved at forklare en del af den med **bmd1**).

Figuren svarende til modellen med parallelle linier dannes ved at skrive:

```
ny.C = data.frame(bmd1=seq(0.7,1.1,0.01),treat="C")
pred.C = predict(model1, ny.C)
ny.P = data.frame(bmd1=seq(0.7,1.1,0.01),treat="P")
pred.P = predict(model1, ny.P)

plot(bmd$bmd1, bmd$bmd5, main="SPM 4", pch=as.numeric(bmd$treat),
col=as.numeric(bmd$treat), cex.lab=1.5)
lines(ny.P$bmd1, pred.P, type = "l", col="red")
lines(ny.C$bmd1, pred.C, type = "l", cex.lab=1.5)
```

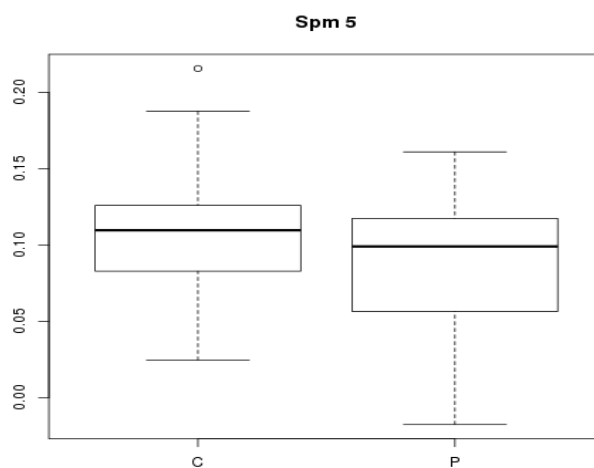


5. Udregn ændringen (tilvæksten) i knogledensitet for hver enkelt pige og kvantificer middelværdien af denne, for hver gruppe for sig. Husk konfidensinterval.
 Er der evidens for en reel forøgelse af bone mineral density i placebo-gruppen?

Denne differens er beregnet som

```
bmd$delta_bmd = bmd$bmd5 - bmd$bmd1
```

og vi skaffer os som sædvanlig lige et overblik ved at se på et Box plot:



For at kvantificere middelværdi, med konfidensinterval, samt at vurdere testet for middelværdi 0, kan vi lave to one-sample T-tests:

```
t.test(bmd.C$delta_bmd,mu=0)
t.test(bmd.P$delta_bmd,mu=0)
```

og vi finder så

```
> t.test(bmd.C$delta_bmd,mu=0)

One Sample t-test

data:  bmd.C$delta_bmd
t = 17.272, df = 43, p-value < 2.2e-16
alternative hypothesis: true mean is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.09775483 0.12359967
sample estimates:
mean of x
0.1106773

> t.test(bmd.P$delta_bmd,mu=0)

One Sample t-test

data:  bmd.P$delta_bmd
t = 13.942, df = 46, p-value < 2.2e-16
alternative hypothesis: true mean is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.07576316 0.10133049
sample estimates:
mean of x
0.08854683
```

som viser, at der sker en reel forøgelse i bmd i begge grupper ($P < 0.0001$ for begge). Tilvæksten er noget større i Calcium-gruppen, men konfidensgrænserne er overlappende.

6. *Sammenlign tilvæksten i knogledensitet for de 2 grupper. Kvantificer forskellen på disse ændringer, og husk igen konfidensinterval.*

Man kan **ikke** slutte ud fra ovenstående overlappende konfidensgrænser, at der ikke er forskel på tilvæksterne i de to grupper! Man er nødt til at undersøge det, nedenfor ved hjælp af et T-test:

```
t.test(delta_bmd~treat,data=bmd)
```

som giver

```
> t.test(delta_bmd~treat,data=bmd)

Welch Two Sample t-test

data: delta_bmd by treat
t = 2.453, df = 88.838, p-value = 0.01612
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.004203869 0.040056987
sample estimates:
mean in group C mean in group P
 0.11067725      0.08854683
```

Vi ser, at ændringerne faktisk er signifikant forskellige, idet Calcium-gruppen har en større tilvækst end Placebo-gruppen. Forskellen estimeres til $0.11067725 - 0.08854683 = 0.0221$, med 95% konfidensinterval på (0.0042, 0.0401).

Forklar forskellen til spørgsmål 3 og 4b (lav evt. en lille tabel med resultater i form af estimater med tilhørende konfidensintervaller).

En sammenfattende tabel over sammenligningen af gruppe C og P (der tillige medtager resultater fra spørgsmål 7 nedenfor) kunne være

Spm. nr.	Metode	Forskel Calcium vs. Placebo		
		Estimat	95% konfidensgrænser	P-værdi
3	Y:bmd5	0.0299	(0.0015, 0.0584)	0.040
4b	Y:bmd5 X:bmd1	0.0237	(0.0065, 0.0408)	0.007
6	Y:delta_bmd	0.0221	(0.0042, 0.0401)	0.016
7	Y:delta_bmd X:bmd1	0.0237	(0.0065, 0.0408)	0.007

Her ses, at alle analyserne er ret enige om selve estimatet for behandlingseffekten, og det skyldes, at randomiseringen er gået fint (måske

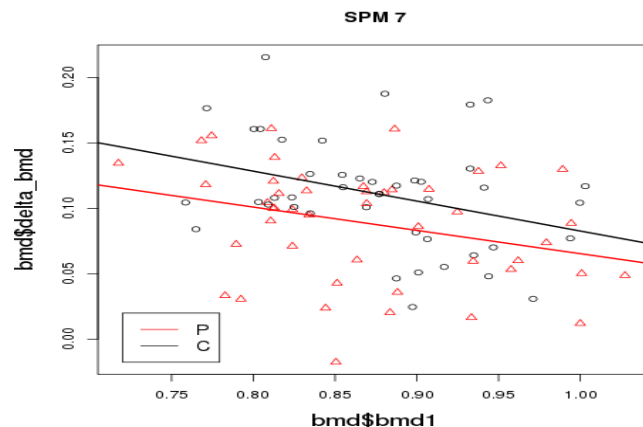
endda *overordentlig=suspekt* fint).

Konfidensgrænserne for estimatet (og derved også P-værdierne) varierer dog lidt, idet vi vinder præcision ved at inddrage baseline værdien i analysen, enten ved at fratrække denne (spm. 6) eller ved at inddrage den som kovariat (smp. 4 og 7). Den sidste metode ses at give det smalleste konfidensinterval, og vi udtrykker dette ved at sige, at den er *mest efficient*, altså at den udnytter data bedst muligt. Desuden eliminerer den den bias, der kunne komme ved “regression to the mean”.

Bemærk, at spørgsmål 4 og 7 (nedenfor) giver helt identiske resultater.

7. *Kvantificer den forventede ekstra tilvækst for en person i C-gruppen i forhold til en person i P-gruppen, under forudsætning af, at disse begge starter fra udgangspunktet (bmd1=0.9).*

Nu gør vi ligesom i spm. 4 og inkluderer baseline værdien `bmd1` som kovariat, men nu med tilvæksten `delta_bmd` som outcome:



Bemærk, at sammenhængen nu er negativ, dvs. hvis man starter lavt, får man den største tilvækst.

```
model2 = lm(delta_bmd ~ bmd1 + factor(treat), data=bmd)
summary(model2)
confint(model2)
```

Outputtet bliver

```
> summary(model2)

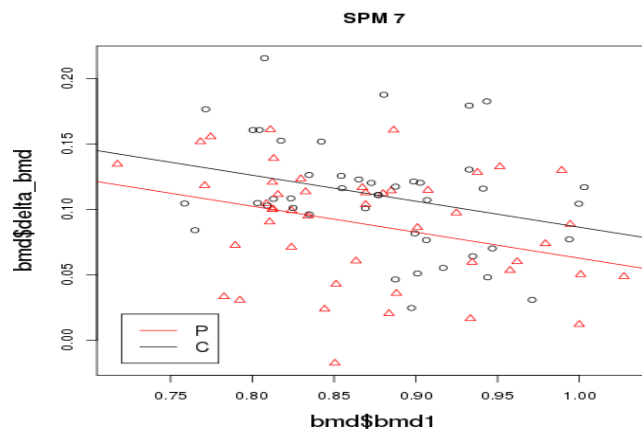
Call:
lm(formula = delta_bmd ~ bmd1 + factor(treat), data = bmd)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.109882 -0.025623  0.002242  0.026172  0.090954

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)   0.284814   0.055786   5.105 1.89e-06 ***
bmd1          -0.198450   0.063183  -3.141 0.00229 **
factor(treat)P -0.023677   0.008624  -2.745 0.00733 **
---
Residual standard error: 0.04105 on 88 degrees of freedom
(21 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.1577, Adjusted R-squared:  0.1385
F-statistic: 8.236 on 2 and 88 DF,  p-value: 0.0005265

> confint(model2)
              2.5 %      97.5 %
(Intercept)  0.17395144  0.395676434
bmd1         -0.32401244 -0.072888502
factor(treat)P -0.04081654 -0.006538004
```

Vi ser, at der stadig er en signifikant forskel på tilvæksterne i grupperne, og at P-værdien er **den samme som i spm. 4.** Dette er ikke et tilfælde, det er helt generelt. Forskellen i Calcium gruppens favør estimeres også til helt den samme værdi, dvs. 0.0237, med et 95% konfidensinterval på (0.0065, 0.0408), ganske uafhængigt af, hvad udgangspunktet var for de pågældende piger, fordi vi arbejder i en model *uden interaktion*, svarende til nedenstående illustration af modellen:



Vi ser endvidere, at hældningen svarende til effekten af **bmd1** er negativ, svarende til det ovenfor nævnte faktum, at der er størst tilvækst for de, der ligger lavt fra starten (regression to the mean).

8. *Kunne man forestille sig, at effekten af calciumtilskuddet afhænger af pigens udgangspunkt, altså **bmd1**?*
Er der noget i data, der tyder på dette?

Både i spørgsmål 4b og ovenfor i spørgsmål 7 har vi konstateret, at effekten af calciumtilskuddet estimeres til 0.0237, med et 95% konfidensinterval på (0.0065, 0.0408), ganske uafhængigt af udgangspunktet **bmd1**, fordi modellerne indtil nu ikke har inkluderet en interaktion (vekselvirkning).

Men dette har været en *antagelse*, og man kunne da sagtens forestille sig, at et calciumtilskud havde større effekt på piger, der lå lavt, sammenlignet med piger, der allerede havde et højt niveau af **bmd**.

Vi kan undersøge om dette er tilfældet ved at inkludere et interaktionsled i modellen:

```
model3 = lm(delta_bmd ~ bmd1+factor(treat)+bmd1*factor(treat), data=bmd)
summary(model3)
confint(model3)
```

som så giver os outputtet:

```
> model3 = lm(delta_bmd ~ bmd1+factor(treat)+bmd1*factor(treat), data=bmd)
> summary(model3)

Call:
lm(formula = delta_bmd ~ bmd1 + factor(treat) + bmd1 * factor(treat),
    data = bmd)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.109491 -0.024454  0.003077  0.026475  0.088838

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    0.31134    0.08798   3.539 0.000648 ***
bmd1          -0.22868    0.10001  -2.287 0.024649 *
factor(treat)P -0.06796    0.11350  -0.599 0.550923
bmd1:factor(treat)P 0.05064    0.12944   0.391 0.696571
---
Residual standard error: 0.04125 on 87 degrees of freedom
(21 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.1591, Adjusted R-squared:  0.1301
F-statistic: 5.489 on 3 and 87 DF,  p-value: 0.001681

> confint(model3)
              2.5 %      97.5 %
(Intercept)    0.1364768  0.4862104
bmd1          -0.4274685 -0.0299002
factor(treat)P -0.2935563  0.1576451
bmd1:factor(treat)P -0.2066286  0.3079126
```

Vi ser af dette output, at interaktionen ikke er signifikant ($P = 0.70$), samt at forskellen på hældningerne af de to linier er 0.051, svarende til, at linien for C-gruppen er en anelse stejlere end den for P-gruppen.

Denne lille forskel på de to hældninger så vi allerede på figuren fra sidste spørgsmål, og tendensen i interaktionen er, at effekten af calci-umtilskuddet er en anelse større for piger, der ligger lavt fra starten, men det er altså overhovedet ikke signifikant.

9. *Har det nogen betydning for konklusionen, at der ikke er lige lang tid mellem målingerne for alle individerne?*

Her kan man vælge enten at omdefinere sit outcome til “ændring pr. år” eller at inddrage tidsforskellen direkte i modellen.

Det er langt det letteste at forstå blot at omregne outcome til ændring pr. år:

```
bmd$delta_pr_aar = bmd$delta_bmd*365/bmd$dage
```

og så udføre et T-test på dette nye outcome:

```
t.test(delta_pr_aar~treat,data=bmd)
```

hvorved vi får

```
> t.test(delta_pr_aar~treat,data=bmd)

Welch Two Sample t-test

data:  delta_pr_aar by treat
t = 2.5036, df = 88.84, p-value = 0.01412
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.002339244 0.020336105
sample estimates:
mean in group C mean in group P
 0.05591045      0.04457278
```

Der er ikke de store ændringer i resultaterne her, bortset fra, at tallene nu er blevet halveret, fordi vi ser på ændringer pr. år, og ikke over hele perioden, som jo er 2 år. Det kunne vi selvfølgelig bare ændre ved at gange med 2....

En anden mulighed er blot at tilføje antallet af dage mellem målingerne som kovariat, enten med eller uden `bmd1` som kovariat, altså i en af modellerne

```
model4 = lm(delta_bmd ~ dage+factor(treat), data=bmd)
```

hvorved vi får

```
> summary(model4)

Call:
lm(formula = delta_bmd ~ dage + factor(treat), data = bmd)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.083456 -0.027023  0.003198  0.024117  0.105155

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  -0.1540148   0.1082814   -1.422   0.1585
dage           0.0003667   0.0001498    2.449   0.0163 *
factor(treat)P -0.0220795   0.0087858   -2.513   0.0138 *
---
Signif. codes:  0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.0
```

```

---

Residual standard error: 0.04188 on 88 degrees of freedom
(21 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared: 0.123, Adjusted R-squared: 0.1031
F-statistic: 6.17 on 2 and 88 DF, p-value: 0.003106

> confint(model4)
                2.5 %      97.5 %
(Intercept) -3.692013e-01 0.0611717482
dage         6.908955e-05 0.0006642909
factor(treat)P -3.953954e-02 -0.0046195376

```

eller nok bedre, ved inddragelse af bmd1 som kovariat:

```
model5 = lm(delta_bmd ~ bmd1+dage+factor(treat), data=bmd)
```

hvorved vi får

```

> summary(model5)

Call:
lm(formula = delta_bmd ~ bmd1 + dage + factor(treat), data = bmd)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.087413 -0.023545 -0.001325  0.022148  0.092317

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  0.0213176  0.1164294   0.183  0.85515
bmd1        -0.1974834  0.0612864  -3.222  0.00179 **
dage         0.0003639  0.0001424   2.556  0.01233 *
factor(treat)P -0.0236192  0.0083655  -2.823  0.00589 **
---

Residual standard error: 0.03981 on 87 degrees of freedom
(21 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared: 0.2165, Adjusted R-squared: 0.1895
F-statistic: 8.013 on 3 and 87 DF, p-value: 8.925e-05

> confint(model5)
                2.5 %      97.5 %
(Intercept) -2.100985e-01 0.2527336717
bmd1        -3.192968e-01 -0.0756699420
dage         8.090732e-05 0.0006468091
factor(treat)P -4.024658e-02 -0.0069919021

```

Vi ser, at forskellen i grupperne nu estimeres til 0.0221 hhv 0.0236, med 95% konfidensinterval på (0.0046, 0.0395) hhv. (0.0070, 0.0402).

Vi sammenfatter alle resultaterne nedenfor:

Spm. nr.	Metode	Forskel Calcium vs. Placebo		
		Estimat	95% konfidensgrænser	P-værdi
3	Y:bmd5	0.0299	(0.0013, 0.0585)	0.041
4b	Y:bmd5 X:bmd1	0.0237	(0.0065, 0.0408)	0.007
6	Y:delta_bmd	0.0221	(0.0042, 0.0401)	0.016
7	Y:delta_bmd X:bmd1	0.0237	(0.0065, 0.0408)	0.007
8a	Y:delta_pr_aar*2	0.0226	(0.0046, 0.0406)	0.014
8b	Y:delta_bmd X:dage	0.0221	(0.0046, 0.0395)	0.016
8c	Y:delta_bmd X:dage bmd1	0.0236	(0.0070, 0.0402)	0.016

Der er imidlertid et lille problem med hensyn til forståelsen af de sidst udførte modeller. Interceptet i model 8b skulle således svare til tilvæksten i bmd i referencegruppen Placebo, på 0 dage, så denne burde måske sættes til 0. På den anden side er der her tale om en ganske overordentlig vild ekstrapolation (da vi aldrig kommer i nærheden af 0 dage med forskellen på de to målinger), så indvendingen er næppe relevant.

Noget helt andet er, at der i virkeligheden er 5 målinger for hver pige, og vi kommer tilbage til disse data i kursets sidste uge.

10. *Et antal piger har kun fået målt bmd en enkelt gang. Beskriv bortfaldet (gerne grafisk) og kommenter dets mulige betydning for konklusionerne.*

Først skal vi have defineret en variabel, der angiver, om der er tale om en pige, der har begge målinger (`bortfald=0`) eller en, der kun har måling ved baseline (`bortfald=1`). Dette kan f.eks. gøres ved at tilføje nedenstående sætning inden første `run`;

```
bmd$bortfald = is.na(bmd$bmd5)
```

```
bmd.P = bmd[bmd$treat=="P",]
```

```
bmd.C = bmd[bmd$treat=="C",]
```

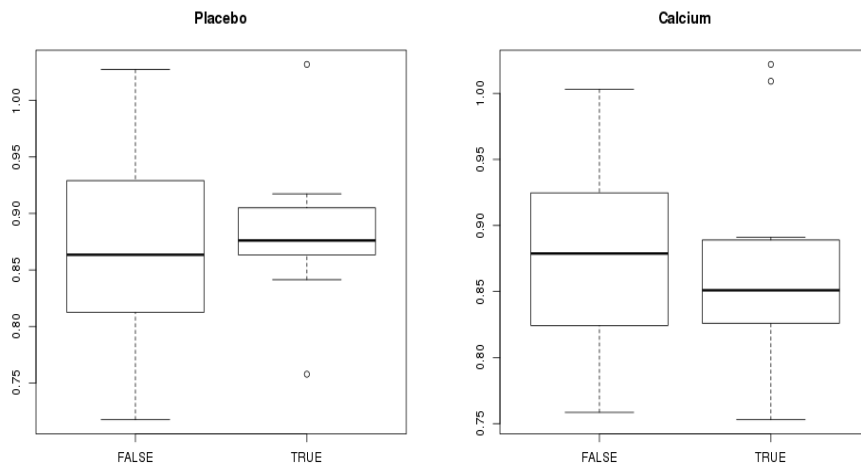
```
table(bmd$bortfald, bmd$treat)
```

	C	P
FALSE	44	47
TRUE	11	10

Herefter kan vi bruge `bortfald` til at opdele materialet. Nedenfor ses Box plot af `bmd1` for bortfaldsgruppen i forhold til ikke-bortfaldsgruppen, for hver behandlingsgruppe for sig:

```
boxplot(bmd1~bortfald, data=bmd.P, main="Placebo")
```

```
boxplot(bmd1~bortfald, data=bmd.C, main="Calcium")
```



Det ser ikke ud som om der er nogen voldsomme skævheder, altså ikke tegn på, at bortfaldsgruppen ligger helt anderledes end resten ved baseline. Dette er jo af gode grunde det eneste, vi kan undersøge, da vi ikke

har follow-up målingen `bmd5` og dermed heller ikke tilvæksten.

Vi kunne lige lave en tabel over gennemsnit og spredninger:

```
> tapply(bmd.P$bmd1, bmd.P$bortfald, mean, na.rm=T)
      FALSE      TRUE
0.8696872 0.8819299
> tapply(bmd.C$bmd1, bmd.C$bortfald, mean, na.rm=T)
      FALSE      TRUE
0.8774818 0.8717594
```

Af denne tabel ses, at bortfaldsgruppen i placebogruppen ligger noget højere end de øvrige. Da sådanne personer med høje niveauer forventes at have en lavere tilvækst (på grund af *regression to the mean*-effekten), kan der altså være en tendens til at overvurdere tilvæksten i placebo-gruppen og derved at undervurdere effekten af calcium.

På den anden side kan personer med et højt niveau også tænkes at være nogle, der har en hurtig tilvækst i knogledensitet, hvorved effekten vil gå i den modsatte retning.

Det ses, at der på ingen måde tale om signifikante forskelle, men så igen: Det er vanskeligt at finde signifikante forskelle med så små grupper, og en manglende signifikans er ikke det samme som “ingen grund til bekymring”.

Reference: Vonesh, F & Chinchilli, V.M. (1997): Linear and nonlinear models for the analysis of repeated measurements.
Chapman & Hall.