

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 overskriftslinie), 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 (`dage`), 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.

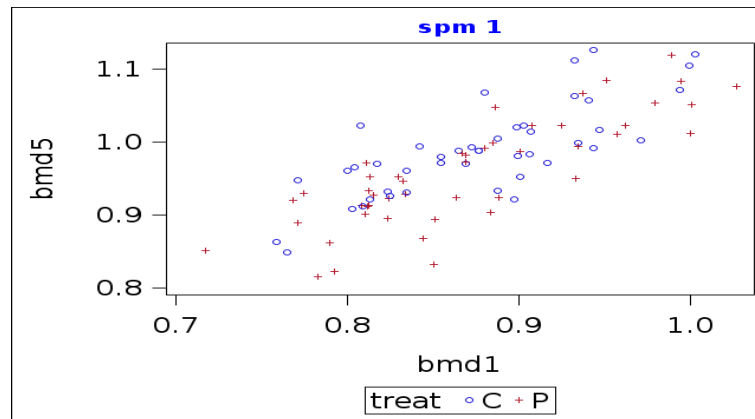
Opgaven går ud på at vurdere effekten af calciumtilskuddet på fornuftig vis, og kandidaterne er nedenstående sammenligninger af de to grupper:

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

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:

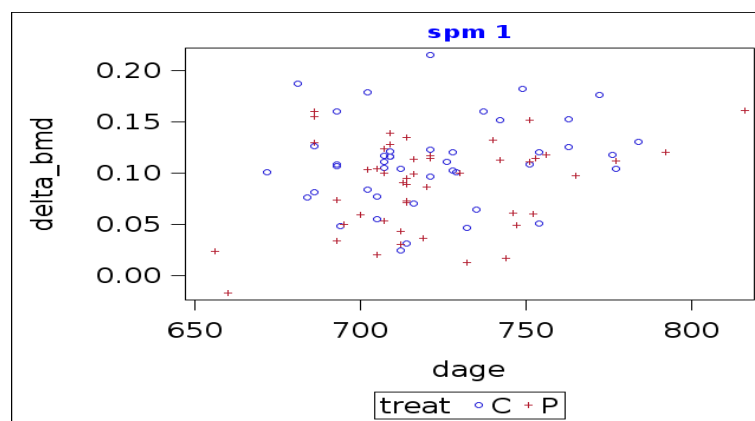
```
proc sgplot data=calcium;  
  scatter Y=bmd5 X=bmd1 / group=treat;  
run;
```



Her ses (som forventet) en oplagt sammenhæng mellem de to målinger, med en tendens til, at de blå 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:

```
proc sgplot data=calcium;
  scatter Y=delta_bmd X=dage / group=treat;
run;
```



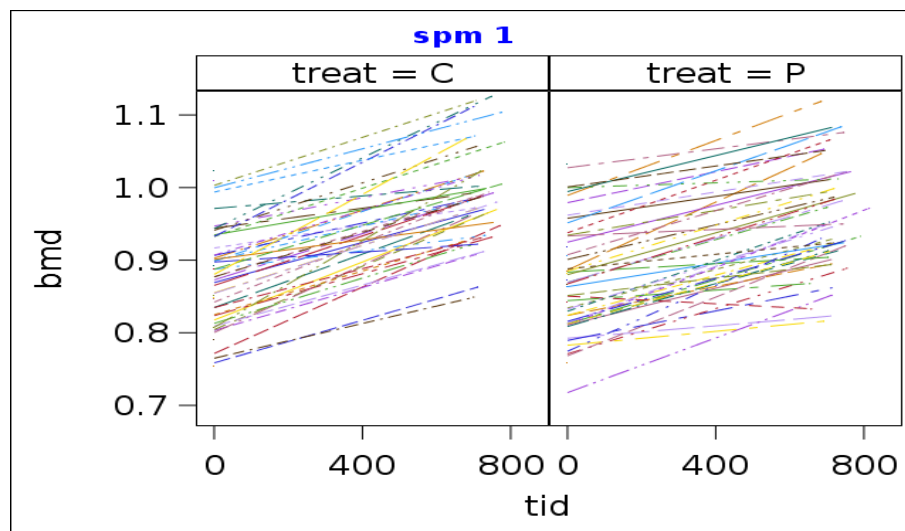
Her ses ingen oplagt sammenhæng, men *hvis* der er nogen, er den (som forventet) positiv.

Endelig kunne vi afbilde observationerne, som man gør med gentagne målinger (*repeated measurements*), dvs. overfor en tidsakse. Dette er lidt vanskeligere og kræver omformning af data til såkaldt “*lang*” facon. Dette plot går også under navnet et “spaghettiplot”:

```
data lang;
set calcium;

bmd=bmd1; tidspunkt=1; tid=0; output;
bmd=bmd5; tidspunkt=5; tid=dage; output;
run;

proc sgpanel data=lang;
panelby treat;
series X=tid Y=bmd / group=id;
run;
```



Her ses individuelle stigninger, opdelt efter gruppe. Der anes en tendens til større hældninger i figuren til højre, som svarer til Calcium-gruppen.

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?

Den letteste metode til at lave summary statistics er ved at benytte `proc means`:

```
proc means data=calcium;
  class treat;
  var dage bmd1 bmd5 delta_bmd;
run;
```

og få det (forhåbentligt rimeligt velkendte) output

The MEANS Procedure

treat	N		Variable	N	Mean	Std Dev	Minimum
	Obs						
C	55	dage	44	721.8409091	28.3999207	672.0000000	
		bmd1	55	0.8763373	0.0665969	0.7529847	
		bmd5	44	0.9881591	0.0628719	0.8490000	
		delta_bmd	44	0.1106773	0.0425041	0.0246103	
P	57	dage	47	721.7021277	30.7655333	656.0000000	
		bmd1	57	0.8718351	0.0726114	0.7175046	
		bmd5	47	0.9582340	0.0736393	0.8160000	
		delta_bmd	47	0.0885468	0.0435395	-0.0175347	

treat	N		Variable	Maximum
	Obs			
C	55	dage	784.0000000	
		bmd1	1.0219340	
		bmd5	1.1260000	
		delta_bmd	0.2155242	
P	57	dage	816.0000000	
		bmd1	1.0318992	
		bmd5	1.1190000	
		delta_bmd	0.1609401	

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.

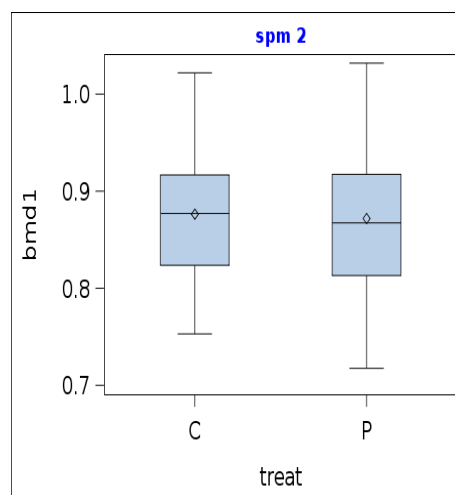
Et bedre overblik over de samme tal kan fås ved hjælp af proceduren `tabulate`, der dog er lidt sværere at se logikken i rent programmeringsteknisk (men så må man bruge gemte kodebidder fra gang til gang):

```
proc tabulate data=calcium;
  class treat;
  var bmd1 bmd5;
  table treat,(bmd1 bmd5)*(N*(f=4.0) mean*(f=6.4) std*(f=6.4));
run;
```

som giver tabellen nedenfor (som givetvis bliver en del pænere som Word-output)

	bmd1			bmd5		
	N	Mean	Std	N	Mean	Std
treat						
C	55	0.8763	0.0666	44	0.9882	0.0629
P	57	0.8718	0.0726	47	0.9582	0.0736

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:



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

```
proc ttest data=calcium;
    class treat;
    var bmd1;
run;
```

The TTEST Procedure

Variable: bmd1

treat	N	Mean	Std Dev	Std Err	Minimum	Maximum
C	55	0.8763	0.0666	0.00898	0.7530	1.0219
P	57	0.8718	0.0726	0.00962	0.7175	1.0319
Diff (1-2)		0.00450	0.0697	0.0132		

treat	Method	Mean	95% CL Mean	Std Dev
C		0.8763	0.8583 0.8943	0.0666
P		0.8718	0.8526 0.8911	0.0726
Diff (1-2)	Pooled	0.00450	-0.0216 0.0306	0.0697
Diff (1-2)	Satterthwaite	0.00450	-0.0216 0.0306	

treat	Method	95% CL Std Dev
C		0.0561 0.0820
P		0.0613 0.0891
Diff (1-2)	Pooled	0.0616 0.0803
Diff (1-2)	Satterthwaite	

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	110	0.34	0.7333
Satterthwaite	Unequal	109.72	0.34	0.7329

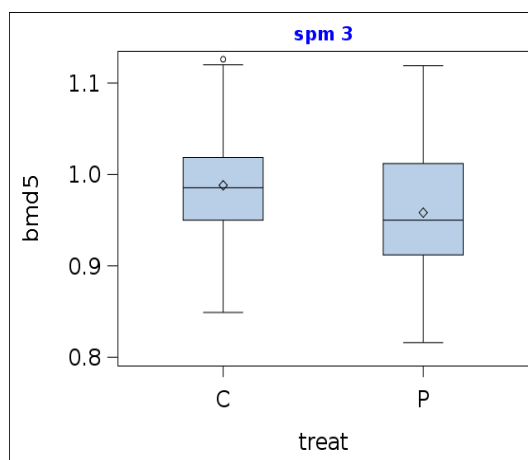
Equality of Variances

Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	56	54	1.19	0.5249

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

```
proc ttest data=calcium;
  class treat;
  var bmd5;
run;
```

The TTEST Procedure

Variable: bmd5

treat	N	Mean	Std Dev	Std Err	Minimum	Maximum
C	44	0.9882	0.0629	0.00948	0.8490	1.1260
P	47	0.9582	0.0736	0.0107	0.8160	1.1190
Diff (1-2)		0.0299	0.0686	0.0144		

treat	Method	Mean	95% CL Mean	Std Dev
C		0.9882	0.9690 1.0073	0.0629
P		0.9582	0.9366 0.9799	0.0736
Diff (1-2)	Pooled	0.0299	0.00131 0.0585	0.0686
Diff (1-2)	Satterthwaite	0.0299	0.00146 0.0584	

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	89	2.08	0.0406
Satterthwaite	Unequal	88.272	2.09	0.0396

Equality of Variances

Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	46	43	1.37	0.2980

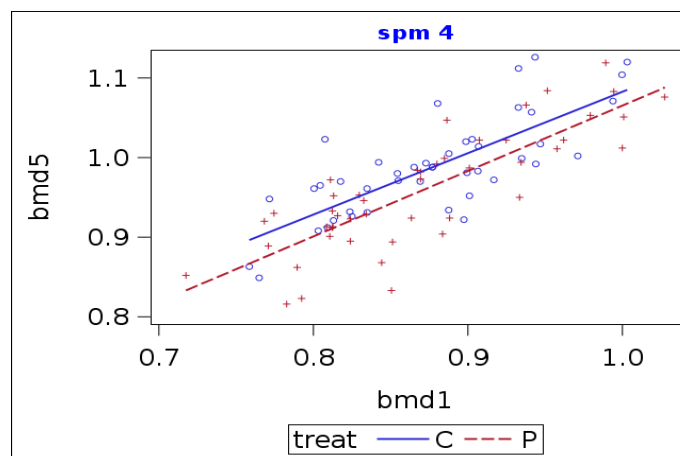
Vi ser, at der er en signifikant forskel på grupperne ved follow-up (P=0.04). Forskellen er i Calcium gruppens favør, og estimeres til 0.0299,

med et 95% konfidensinterval på (0.0013, 0.0585).

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**.



Hvis disse to linier havde været helt parallelle, ville de svare til kovariansanalysemodellen nedenfor (en additiv model med to kovariater, uden interaktion). De to **estimate**-sætninger benyttes i spørgsmål 4a og kommenteres nedenfor.

```
proc glm data=calcium;
  class treat;
  model bmd5=bmd1 treat / solution clparm;
  estimate "bmd5 for C-pige med bmd1=0.9" intercept 1 treat 1 0 bmd1 0.9;
  estimate "bmd5 for P-pige med bmd1=0.9" intercept 1 treat 0 1 bmd1 0.9;
run;
```

Vi får outputtet

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
treat	2	C P

Number of Observations Read	112
Number of Observations Used	91

Dependent Variable: bmd5

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.29150704	0.14575352	86.51	<.0001
Error	88	0.14826395	0.00168482		
Corrected Total	90	0.43977099			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	bmd5 Mean
0.662861	4.219841	0.041047	0.972703

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bmd1	1	0.27880849	0.27880849	165.48	<.0001
treat	1	0.01269855	0.01269855	7.54	0.0073

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bmd1	1	0.27115637	0.27115637	160.94	<.0001
treat	1	0.01269855	0.01269855	7.54	0.0073

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
bmd5 for C-pige med bmd1=0.9	1.00620851	0.00634945	158.47	<.0001
bmd5 for P-pige med bmd1=0.9	0.98253124	0.00628612	156.30	<.0001

Parameter	95% Confidence Limits	
bmd5 for C-pige med bmd1=0.9	0.99359031	1.01882671
bmd5 for P-pige med bmd1=0.9	0.97003889	0.99502358

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	0.2611366635 B	0.05527425	4.72	<.0001
bmd1	0.8015495283	0.06318251	12.69	<.0001
treat C	0.0236772742 B	0.00862444	2.75	0.0073
treat P	0.0000000000 B	.	.	.

Parameter	95% Confidence Limits	
Intercept	0.1512907106	0.3709826165
bmd1	0.6759875588	0.9271114979
treat C	0.0065380045	0.0408165440
treat P	.	.

- (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, inkluderede vi ovenfor en (ja, faktisk to) `estimate`-sætninger:

```
estimate "bmd5 for C-pige med bmd1=0.9" intercept 1 treat 1 0 bmd1 0.9;  
estimate "bmd5 for P-pige med bmd1=0.9" intercept 1 treat 0 1 bmd1 0.9;
```

Bemærk, at den eneste forskel på de to `estimate`-sætninger er, hvilket `treat`-estimat, der lægges til.

Fra disse fik vi outputtet

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
bmd5 for C-pige med bmd1=0.9	1.00620851	0.00634945	158.47	<.0001
bmd5 for P-pige med bmd1=0.9	0.98253124	0.00628612	156.30	<.0001

Parameter	95% Confidence Limits	
bmd5 for C-pige med bmd1=0.9	0.99359031	1.01882671
bmd5 for P-pige med bmd1=0.9	0.97003889	0.99502358

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 (Root MSE) er $s = 0.041$, finder vi prediktionsintervallet

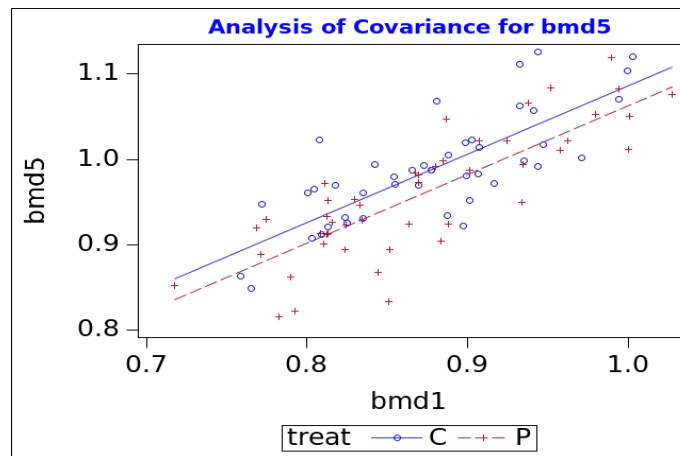
$$1.006 \pm 2 \times 0.041 = (0.924, 1.088)$$

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 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`).

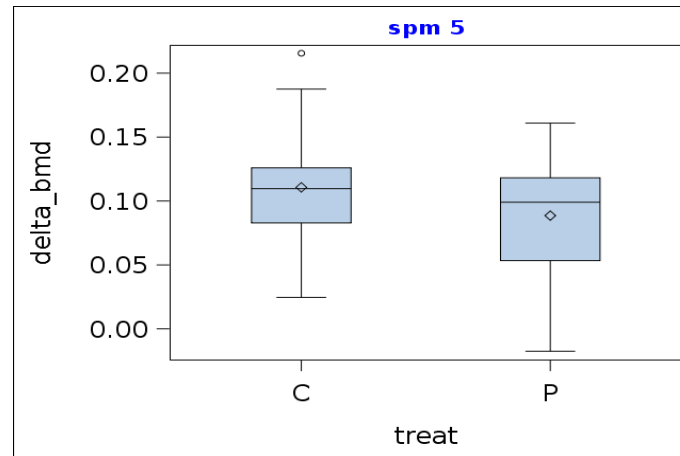
5. Udregn ændringen (tilvæksten) i knogledensitet for hver enkelt pige og kvantificer middelværdien af denne, for hver gruppe for sig. Husk konfidensinterval.

Er der evidens for en reel forøgelse af bone mineral density i placebo-gruppen?

Denne differens er beregnet som

```
delta_bmd=bmd5-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, behøver vi faktisk ikke bruge andet end `proc means`, når bare vi tilføjer de relevante keywords:

```
proc means N mean stderr clm t probt data=calcium;
  class treat;
  var delta_bmd;
run;
```

og vi finder så

The MEANS Procedure

Analysis Variable : delta_bmd						
treat	N Obs	N	Mean	Std Error	Lower 95% CL for Mean	Upper 95% CL for Mean
C	55	44	0.1106773	0.0064077	0.0977548	0.1235997
P	57	47	0.0885468	0.0063509	0.0757632	0.1013305

Analysis Variable : delta_bmd			
treat	N Obs	t Value	Pr > t
C	55	17.27	<.0001
P	57	13.94	<.0001

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:

```
proc ttest data=calcium;
    class treat;
    var delta_bmd;
run;
```

som giver

The TTEST Procedure

Variable: delta_bmd

treat	N	Mean	Std Dev	Std Err	Minimum	Maximum
C	44	0.1107	0.0425	0.00641	0.0246	0.2155
P	47	0.0885	0.0435	0.00635	-0.0175	0.1609
Diff (1-2)		0.0221	0.0430	0.00903		

treat	Method	Mean	95% CL Mean	Std Dev
C		0.1107	0.0978 0.1236	0.0425
P		0.0885	0.0758 0.1013	0.0435
Diff (1-2)	Pooled	0.0221	0.00419 0.0401	0.0430
Diff (1-2)	Satterthwaite	0.0221	0.00420 0.0401	

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	89	2.45	0.0162
Satterthwaite	Unequal	88.838	2.45	0.0161

Equality of Variances

Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	46	43	1.05	0.8759

Vi ser, at ændringerne faktisk er signifikant forskellige, idet Calcium-gruppen har en større tilvækst end Placebo-gruppen. Forskellen estimeres til 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 estimer 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	(0.0013, 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

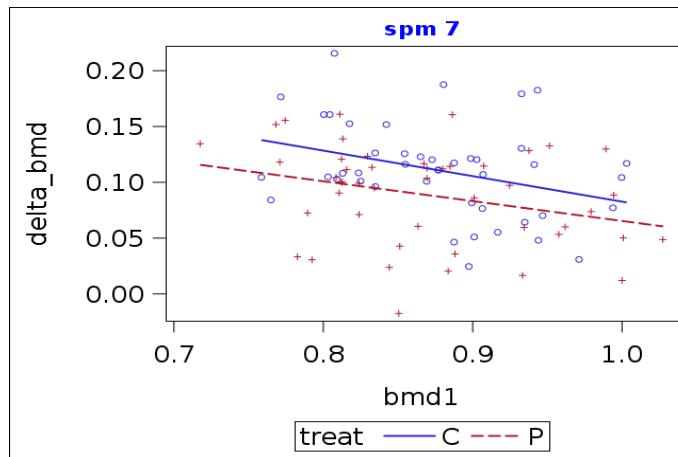
Her ses, at alle analyserne er ret enige om selve estimatet for behandlingseffekten, og det skyldes, at randomiseringen er gået fint (måske endda *overordentlig=suspekt* fint).

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. I analysen nedenfor inkluderer vi **estimate**-sætninger, ganske svarende til dem fra spørgsmål 4b:

```
proc glm data=calcium;
  class treat;
  model delta_bmd=bmd1 treat / solution clparm;
  estimate "delta_bmd for C-pige med bmd1=0.9" intercept 1 treat 1 0 bmd1 0.9;
  estimate "delta_bmd for P-pige med bmd1=0.9" intercept 1 treat 0 1 bmd1 0.9;
run;
```

Outputtet bliver

The GLM Procedure

Class Level Information		
Class	Levels	Values
treat	2	C P

Number of Observations Read	112
Number of Observations Used	91

Dependent Variable: delta_bmd

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.02775107	0.01387554	8.24	0.0005
Error	88	0.14826395	0.00168482		
Corrected Total	90	0.17601502			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	delta_bmd Mean
0.157663	41.35785	0.041047	0.099247

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bmd1	1	0.01505252	0.01505252	8.93	0.0036
treat	1	0.01269855	0.01269855	7.54	0.0073

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bmd1	1	0.01662124	0.01662124	9.87	0.0023
treat	1	0.01269855	0.01269855	7.54	0.0073

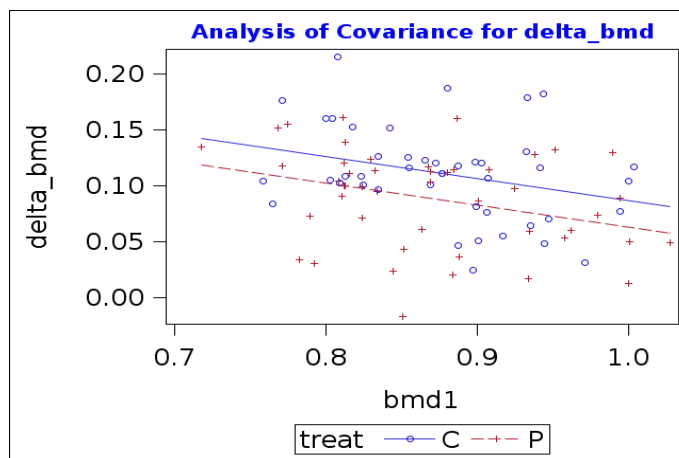
Parameter	Estimate	Standard Error	t Value
delta_bmd for C-pige med bmd1=0.9	0.10620851	0.00634945	16.73
delta_bmd for P-pige med bmd1=0.9	0.08253124	0.00628612	13.13

Parameter	Pr > t	95% Confidence Limits
delta_bmd for C-pige med bmd1=0.9	<.0001	0.09359031 0.11882671
delta_bmd for P-pige med bmd1=0.9	<.0001	0.07003889 0.09502358

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	0.2611366635 B	0.05527425	4.72	<.0001
bmd1	-.1984504717	0.06318251	-3.14	0.0023
treat C	0.0236772742 B	0.00862444	2.75	0.0073
treat P	0.0000000000 B	.	.	.

Parameter	95% Confidence Limits
Intercept	0.1512907106 0.3709826165
bmd1	-.3240124412 -.0728885021
treat C	0.0065380045 0.0408165440
treat P	.

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 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:



Tilvæksten i hver af de to grupper (for piger startende ved $0.9 \frac{g}{cm^2}$) er også kvantificeret ovenfor, nemlig som 0.106 (0.094, 0.119) i C-gruppen, og 0.083 (0.070, 0.095) i P-gruppen.

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, samt dertil hørende noget mere komplicerede **estimate**-sætninger:

```

proc glm data=calcium;
    class treat;
    model delta_bmd=bmd1 treat treat*bmd / solution clparm;
    estimate "delta_bmd for C-pige med bmd1=0.9"
        intercept 1 treat 1 0 bmd1 0.9 treat*bmd1 0.9 0;
    estimate "delta_bmd for P-pige med bmd1=0.9"
        intercept 1 treat 1 0 bmd1 0.9 treat*bmd1 0 0.9;
run;

```

som så giver os outputtet:

The GLM Procedure

Dependent Variable: delta_bmd

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.02801148	0.00933716	5.49	0.0017
Error	87	0.14800354	0.00170119		
Corrected Total	90	0.17601502			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	delta_bmd Mean
0.159143	41.55832	0.041245	0.099247

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bmd1	1	0.01505252	0.01505252	8.85	0.0038
treat	1	0.01269855	0.01269855	7.46	0.0076
bmd1*treat	1	0.00026041	0.00026041	0.15	0.6966

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bmd1	1	0.01679730	0.01679730	9.87	0.0023
treat	1	0.00060980	0.00060980	0.36	0.5509
bmd1*treat	1	0.00026041	0.00026041	0.15	0.6966

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value
delta_bmd for C-pige med bmd1=0.9	0.10552770	0.00661327	15.96
delta_bmd for P-pige med bmd1=0.9	0.15110547	0.11493067	1.31

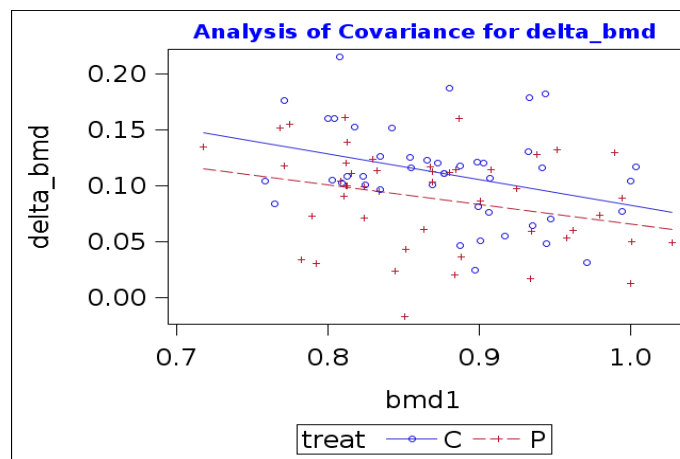
Parameter	Pr > t	95% Confidence Limits
delta_bmd for C-pige med bmd1=0.9	<.0001	0.09238312 0.11867228
delta_bmd for P-pige med bmd1=0.9	0.1920	-0.07733167 0.37954262

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	0.2433880057 B	0.07171369	3.39	0.0010
bmd1	-.1780423784 B	0.08216848	-2.17	0.0330
treat C	0.0679556070 B	0.11350360	0.60	0.5509
treat P	0.0000000000 B	.	.	.
bmd1*treat C	-.0506419668 B	0.12943727	-0.39	0.6966

Parameter		95% Confidence Limits	
Intercept		0.1008492890	0.3859267223
bmd1		-.3413611354	-.0147236214
treat	C	-.1576450842	0.2935562981
treat	P	.	.
bmd1*treat	C	-.3079125507	0.2066286172

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 ses i model-illustrationen nedenfor, som (i parentes bemærket) er nøjagtig den samme, som vi fik ved det umiddelbare plot fra spørgsmål 7.



Tendensen i interaktionen er, at effekten af calciumtilskuddet 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:

```
delta_pr_aar=delta_bmd*365/dage;
```

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

```
proc ttest data=calcium;
    class treat;
    var delta_pr_aar;
run;
```

hvorved vi får

```
The TTEST Procedure
Variable:  delta_pr_aar
```

treat	N	Mean	Std Dev	Std Err	Minimum	Maximum
C	44	0.0559	0.0213	0.00322	0.0126	0.1091
P	47	0.0446	0.0219	0.00319	-0.00970	0.0854
Diff (1-2)		0.0113	0.0216	0.00453		

treat	Method	Mean	95% CL Mean	Std Dev
C		0.0559	0.0494 0.0624	0.0213
P		0.0446	0.0382 0.0510	0.0219
Diff (1-2)	Pooled	0.0113	0.00233 0.0203	0.0216
Diff (1-2)	Satterthwaite	0.0113	0.00234 0.0203	

Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
Pooled	Equal	89	2.50	0.0142
Satterthwaite	Unequal	88.84	2.50	0.0141

Equality of Variances

Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Folded F	46	43	1.05	0.8751

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

```
proc glm data=calcium;
    class treat;
    model delta_bmd=dage treat / solution clparm;
```

```
run;

proc glm data=calcium;
  class treat;
  model delta_bmd=dage bmd1 treat / solution clparm;
run;
```

hvorved vi får (output meget beskåret)

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	-.1760943045 B	0.10824889	-1.63	0.1074
dage	0.0003666902	0.00014975	2.45	0.0163
treat C	0.0220795384 B	0.00878583	2.51	0.0138
treat P	0.0000000000 B	.	.	.

Parameter	95% Confidence Limits	
Intercept	-.3912162302	0.0390276211
dage	0.0000690895	0.000642909
treat C	0.0046195376	0.0395395391
treat P	.	.

eller

Parameter	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Intercept	-.0023016474 B	0.11617952	-0.02	0.9842
dage	0.0003638582	0.00014236	2.56	0.0123
bmd1	-.1974833766	0.06128644	-3.22	0.0018
treat C	0.0236192393 B	0.00836550	2.82	0.0059
treat P	0.0000000000 B	.	.	.

Parameter	95% Confidence Limits	
Intercept	-.2332210137	0.2286177188
dage	0.0000809073	0.0006468091
bmd1	-.3192968112	-.0756699420
treat C	0.0069919021	0.0402465766
treat P	.	.

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.*

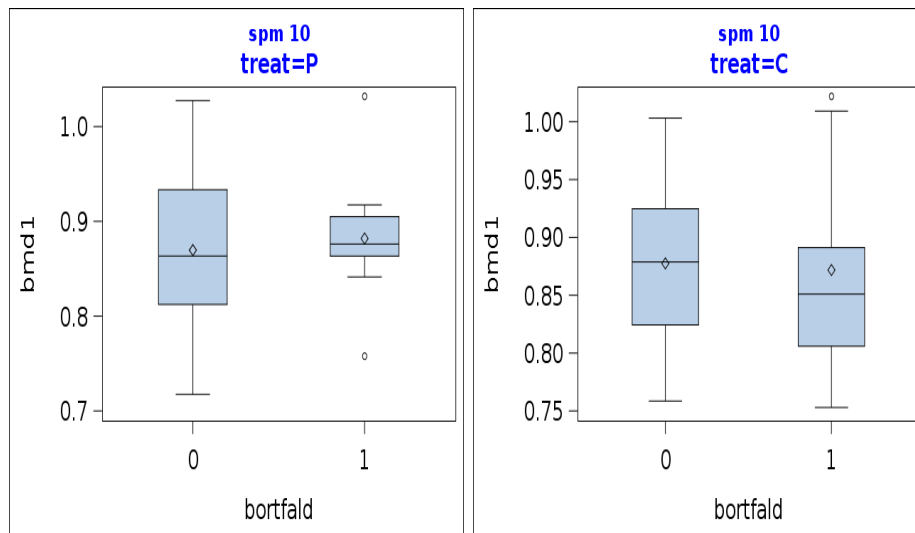
Først skal vi have defineret en variabel, der angiver, om der er tale om en pige, der har begge målinger (`bortfald=0`) eller en, der kun har måling ved baseline (`bortfald=1`). Dette kan f.eks. gøres ved at tilføje nedenstående sætning inden første `run`;

```
if bmd5<0 then bortfald=1; else bortfald=0;
```

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:

```
proc sort data=calcium; by treat;
run;

proc sgplot data=calcium; by treat;
  vbox bmd1 / category=bortfald;
run;
```



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:

```
proc tabulate data=calcium;
  class treat bortfald;
  var bmd1;
  table treat*bortfald,bmd1*(N*(f=4.0) mean*(f=6.4) std*(f=6.4));
run;
```

		bmd1		
		N	Mean	Std
treat	bortfald			
C	0	44	0.8775	0.0629
	1	11	0.8718	0.0831
P	0	47	0.8697	0.0740
	1	10	0.8819	0.0684

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.